

T.C.
DICLE ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

FARKLI İYONLARLA KATKILANDIRILMIŞ ÇEŞİTLİ TAÇ
ETERLERİN SICAKLIK VE KONSANTRASYONA BAĞLI
OLARAK T_2 SPİN-SPİN DURULMA ZAMANLARININ
ÖLÇÜLMESİ

ÇİĞDEM AKMANSOY

YÜKSEK LİSANS TEZİ

FİZİK ANABİLİM DALI

DIYARBAKIR

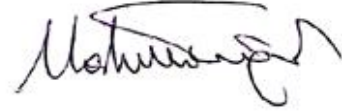
ŞUBAT 2013

T.C.
DİCLE ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜ
DİYARBAKIR

ÇİĞDEM AKMANSOY tarafından yapılan "FARKLI İYONLARLA KATKILANDIRILMIŞ ÇEŞİTLİ TAÇ ETERLERİN SICAKLIK VE KONSANTRASYONA BAĞLI OLARAK T₂ SPİN-SPİN DURULMA ZAMANLARININ ÖLÇÜLMESİ" konulu bu çalışma, jürimiz tarafından Fizik Anabilim Dalında YÜKSEK LİSANS tezi olarak kabul edilmiştir.

Jüri Üyeleri

Başkan : Doç. Dr. Mahmut TOĞRUL



Üye : Doç. Dr. Muzaffer AŞKIN(Danışman)



Üye : Doç. Dr. M.Zafer KÖYLÜ



Tez Savunma Sınavı Tarihi: 27/02/2013

Yukarıdaki bilgilerin doğruluğunu onaylarım.

.....

Prof. Dr. Hamdi TEMEL
Enstitü Müdürü

TEŞEKKÜR

Öncelikle, bu yüksek lisans tezinin hazırlanmasında her türlü desteğini esirgemeyen, değerli hocam Doç. Dr. Muzaffer AŞKIN'a en derin saygılarımla teşekkür ederim.

Ayrıca, çalışma arkadaşım Derya KAYA'ya, deneylerin yapılması aşamasında yardımlarını esirgemeyen Kimya Bölümü Doktora öğrencisi Sevil ŐEKER'e, Fizik Bölümü çalışanlarına, hayatımın her aşamasında yanımda olan sevgili aileme teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
TEŞEKKÜR	I
İÇİNDEKİLER.....	II
ÖZET.....	IV
ABSTRACT	V
ÇİZELGE LİSTESİ.....	VI
ŞEKİL LİSTESİ.....	VII
KISALTMA VE SİMGELER.....	IX
1. GİRİŞ.....	1
2. KAYNAK ÖZETLERİ	5
2.1. Nükleer Manyetik Rezonans Spektroskopisi.....	5
2.2. Atom Çekirdeğinin Manyetik Özelliği	6
2.3. Çekirdek Spin Kuantum Sayısı.....	8
2.4. Atom Çekirdeklerinin Manyetik Alanda Davranışı.....	8
2.5. Manyetik Bir Dipolün Manyetik Alanda Enerjisi	9
2.6. Rezonans Kavramı	11
2.7. Soğurulan Enerji	17
2.8. Spin-örgü etkileşmesi.....	20
2.9. Durulma Mekanizmaları	24
2.10. İnversion Recovery yöntemi	26
2.11. Spin Spin (T_2) Durulma Zamanlarının Ölçümleri	30
2.12. Aktivasyon Enerjisi (E_a) ve İlgili Zamanları (τ_o, τ_c) nın Hesaplanması İçin Durulma Oranlarının Düzenlenmesi	30
2.13. Taç Eterler	31
2.14. Moleküler Tanımanın Nicel Tayin Yöntemleri	33
2.14.1. Bağlanma Sabiti K_a 'nın MNR Verilerinden Hesaplanması Fielding 2000.....	33
2.14.1.1. Stokiyometrenin Hesaplanması	35
2.14.1.2. Grafiksel Metotlar	37
2.14.1.2.1. 2.14.1.2.1 Benesi-Hildebrand (Hana-Ashbaugh) İşlemi	37
2.14.1.3. Deneysel Hatalar, Güvenilirlik ve Sınırlamalar	38
2.14.1.3.1. NMR Gözlemi	38
2.14.1.3.2. Çözelti Derişimleri	38

3.	MATERYAL VE METOT.....	47
3.1	Crown Eterlerin Tarihçesi	47
3.2.	NMR Spektrometresi	47
3.3.	Materyal.....	48
3.3.1.	Taç Eterler.....	48
3.3.2	İyonlar.....	48
3.4.	Metot.....	49
3.4.1.	Örneklerin Hazırlanması.....	49
3.5.	T ₂ Spin-Spin Durulma Zamanlarının Ölçümleri	50
4.	ARAŞTIRMA BULGULARI.....	51
4.1	Titrasyon Deneyleri	56
4.1.1.	4-Aminobenzo-15-Taç-5 ile NaClO ₄ ' in ¹ H NMR Titrasyon Deneyi Kimyasal Kayma (Δδ) Sonuçları	56
4.1.2.	4-Aminobenzo-15-Taç-5 ile NaClO ₄ ' in ¹ H NMR Titrasyon Deneyi Durulma Zamanı (ΔR) Sonuçları	57
4.1.3.	4-Aminobenzo-15-Taç-5 ile LiClO ₄ ' in ¹ H NMR Titrasyon Deneyi Kimyasal Kayma (Δδ) Sonuçları	58
4.1.4.	4-Aminobenzo-15-Taç-5 ile LiClO ₄ ' in ¹ H NMR Titrasyon Deneyi Durulma Zamanı (ΔR) Sonuçları	59
4.1.5.	Sonuçlar	63
5.	TARTIŞMA VE SONUÇ	67
6.	KAYNAKLAR	71
	ÖZGEÇMİŞ	79

ÖZET
FARKLI İYONLARLA KATKILANDIRILMIŞ 4-AMİNOBENZO-15-CROWN-5
TAÇ ETER TÜREVİNİN SICAKLIK VE KONSANTRASYONA BAĞLI OLARAK
T₂ SPİN-SPİN DURULMA ZAMANLARININ ÖLÇÜLMESİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ
ÇİĞDEM AKMAN SOY

DİCLE ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
FİZİK ANABİLİM DALI
2013

Bu çalışmada, 400 MHz Avance Bruker Marka NMR spektrometresi kullanılarak, Aceton d₆ ortamında çözünmüş taç etere (4-aminobenzo-15-crown-5); sodyumperklorat (NaClO₄) ve lityumperklorat (LiClO₄) tuzları eklenmesiyle oluşan komplekslerin T₂ durulma zamanları ölçüldü.

Bu ölçümlerin değerlendirilmesinden hareketle, modifiye edilmiş Benesi- Hildebrand denklemi ve kimyasal kayma yöntemlerine göre Bağlanma sabitleri (K_a) hesaplandı. Keza sabit derişimdeki ($1,7 \times 10^{-3} M$) taç eter çözeltisinin, sıcaklığa bağlı olarak, T₂ Spin-Spin durulma zamanları ölçüldü. T₂ Spin-Spin durulma zamanı değerlerinin, 1/T' ye göre değişiminin çizgisel olarak azaldığı gözlemlendi.

Benesi- Hildebrand denklemiyle modifiye edilmiş (T₂) ve kimyasal kayma (δ) yöntemleri kullanılarak elde edilen bağlanma sabitleri sonuçları karşılaştırıldığında, her iki ölçüm tekniği arasında bir uyum olduğu ve kullandığımız taç eterin özellikle NaClO₄ iyonu ile daha iyi kompleksleştii gözlemlendi.

Ayrıca lnT₂'nin 1/T'ye göre grafiksel değerlendirmesinden hareketle, E_a aktivasyon enerjileri ve τ_c ve τ_o ilgi zamanları hesaplandı ve bu hesaplamalardan elde edilen sonuçlar ise molekülün rotasyonel hareketine yorumlandı.

Anahtar kelimeler: NMR, T₂ spin-spin durulma zamanı, Kimyasal kayma, taç eterler, Bağlanma sabitleri,

ABSTRACT

MEASUREMENT OF T_2 SPIN- LATTICE RELAXATION TIMES OF 4-AMINOBENZO-15-CROWN-5 CROWN ETHER DERIVATIVE DOPED WITH DIFFERENT IONS, DEPENDING ON TEMPERATURE AND CONCENTRATION

MSc THESIS

Çiğdem AKMANSOY

DEPARTMENT OF PHYSICS

INSTITUTE OF NATURAL AND APPLIED SCIENCES

UNIVERSITY OF DICLE

2013

In this study, the T_2 relaxation times of the complexes obtained by doping with sodiumperchlorate (NaClO_4) and lithiumperchlorate (LiClO_4) salts are measured by using a 400 MHz BRUKER NMR spectrometer.

By taking into account of these measurement the binding constants (K_a) are calculated according to the modified Benesi-Hildebrand equation and the chemical shift-method, respectively. Also, T_2 spinSpin relaxation time of the crown ether solution held in fixed concentration and solved in aceton- d_6 medium is measured depending on the temperature. It is observed that the T_2 spin-Spin relaxaton time decreased linearly wiht respect to $1/T$.

When the result of binding constants obtained by Benesi-Hildebrand and the chemical shift_method are compared it is found that they are well-matched. The binding constants found here show that the crown ether which we used is complexed beter with the (NaClO_4)ion, better.

Furthermore the activation enerjies, E_a , and the affinity times τ_c and τ_0 are calculated by evaluation of the plot of $\ln T_2$ versus $1/T$. According to the results of these calculations, we can say that this mechanism comes from the rotational motion of the molecule.

Key words: NMR, T_2 spin-spin relaxation time, Crown ethers, Chemical shifts, Binding constants.

ÇİZELGE LİSTESİ

<u>Çizelge No</u>		<u>Sayfa</u>
Çizelge 3.1.	Çalışmada kullanılan taç eter ve iyon konsantrasyonları	49
Çizelge 4.1.	4-Aminobenzo-15-Taç-5 ile NaClO ₄ ' in ¹ H NMR Titrasyon verileri	56
Çizelge 4.2.	4-Aminobenzo-15-Taç-5 ile NaClO ₄ ' in ¹ H NMR Titrasyon verileri	57
Çizelge 4.3.	4-Aminobenzo-15-Taç-5 ile LiClO ₄ ' in ¹ H NMR Titrasyon verileri	58
Çizelge 4.4.	4-Aminobenzo-15-Taç-5 ile LiClO ₄ ' in ¹ H NMR Titrasyon verileri	59
Çizelge 4.5.	4-Aminobenzo-15-Taç-5'in ¹ H-NMR spektrumundaki her bir pik için spin-spin durulma zamanının (T ₂) sıcaklığa (T) bağlı değerleri	60
Çizelge 4.6	4-aminobenzo-15-crown eter-5 için Ka(Δδ)(M ⁻¹) Kimyasal kaymalar veKa(ΔR)(M ⁻¹) T ₂ durulma zamanları kullanılarak hesaplanan bağlanma sabitleri.....	63
Çizelge 4.7.	Şekil 4.1 deki spektrum piklerini, hesaplanan aktivasyon enerjileri (E _a) ve ilgi zamanları (τ ₀), (τ _c).....	64
Çizelge 4.8.	4-Aminobenzo-15-Taç-5'in; Sodyumperklorat (NaClO ₄) tuzu eklenmesiyle oluşan kompleksin spin-spin durulma zamanının (T ₂) konsantrasyona (C) bağlı değerleri	64
Çizelge 4.9.	4-Aminobenzo-15-Taç-5'in; Lityumperklorat (LiClO ₄) tuzu Eklenmesiyle oluşan kompleksin spin-spin durulma zamanının (T ₂) konsantrasyona (C) bağlı değerleri	64

ŞEKİL LİSTESİ

<u>Şekil No</u>		<u>Sayfa</u>
Şekil 2.1.	Spini $\frac{1}{2}$ olan bir çekirdeğin B_0 dış manyetik alana konulduğunda oluşan yönelimler	5
Şekil 2.2.	Proton nmr' ı için kimyasal kayma gösterimi	6
Şekil 2.3.	Atom çekirdeğinin hareketinin şematik olarak gösterilmesi.....	7
Şekil 2.4.	Protonun manyetik alanda yönelmesi ve farklı enerji seviyelerinin gösterilişi	11
Şekil 2.5.	(a) Proton spinlerinin manyetik alanın olmadığı bir durumda davranışı (b) Proton spinlerinin homojen bir manyetik alanda davranışı	11
Şekil 2.6.	(a) Manyetik alan ile paralel yönelmiş bir çekirdeğin presesyon hareketi (b) Manyetik alan ile antiparalel yönelmiş bir çekirdeğin presesyon hareketi	12
Şekil 2.7.	Makroskopik bir numunede paralel ve antiparalel yönelen çekirdeklerin presesyon hareketlerinin toplu bir şekilde görünümü	13
Şekil 2.8.	Manyetik momentin z ekseninde ve xy -düzleminde olan bileşenleri	14
Şekil 2.9.	Makroskopik bir numunede boyuna (longitudinal) mıknatıslanma M_z	14
Şekil 2.10.	Makroskopik bir numunede longitudinal mıknatıslanma'nın rf alanı etkisi ile y yönüne çevrilmesi	15
Şekil 2.11.	(a) Normal sabit koordinatlar (Laboratuvar Koordinatları) (b) Trossey tarafından geliştirilen döner koordinatlar	16
Şekil 2.12.	RF alanı ile etkileşmesi sonucu, mıknatıslanmasının y' eksenine doğru $0 \rightarrow M$ çevrilmesi ve y'- yönünde bir mıknatıslanmanın oluşumu	17
Şekil 2.13.	İnversion Recovery puls adımının gösterimi	26
Şekil 2.14.	İnversion Recovery metoduna göre magnetizasyon vektörü M'nin davranışı..	28
Şekil 2.15.	Gözlenen İnversion Recovery adımlarının zamana bağlılık eğrisi	29
Şekil 2.16.	(a) NMR sinyalinin serbestçe bozunması. (b) Bir NMR spektrumu	29
Şekil 2.17.	Guestin mol fonksiyonu	36
Şekil 3.1.	4-Aminobenzo-15-taç-5 molekül yapısı	48
Şekil 3.2.	1-Aza-15-Taç-5 Molekül yapısı	49
Şekil 3.3.	LİCLO ₄ Molekül yapısı	49

Şekil 4.1.	4-Aminobenzo-15-Taç-5 LiClO ₄ ¹ H NMR spektrumu	52
Şekil 4.2.	4-Aminobenzo-15-Taç-5 LiClO ₄ ¹ H NMR spektrumu	53
Şekil 4.3.	4-Aminobenzo-15-Taç-5 LiClO ₄ (40°) ¹ H NMR spektrumu	54
Şekil 4.4.	4-Aminobenzo-15-Taç-5 LiClO ₄ (35°) ¹ H NMR spektrumu	55
Şekil 4.5.	4-Aminobenzo-15-Taç-5 ile NaClO ₄ ' in ¹ H NMR Titrasyon Grafiği	56
Şekil 4.6.	4-Aminobenzo-15-Taç-5 ile NaClO ₄ ' in ¹ H NMR Titrasyon Grafiği	57
Şekil 4.7.	4-Aminobenzo-15-Taç-5 ile LiClO ₄ ' in ¹ H NMR Titrasyon Grafiği	58
Şekil 4.8.	4-Aminobenzo-15-Taç-5 ile LiClO ₄ ' in ¹ H NMR Titrasyon Grafiği	59
Şekil.4.9.	Pik A için lnT ₂ nin 1/T sıcaklığına göre değişim grafiği	60
Şekil.4.10.	Pik B için lnT ₂ nin 1/T sıcaklığına göre değişim grafiği	61
Şekil.4.11.	Pik C için lnT ₂ nin 1/T sıcaklığına göre değişim grafiği	61
Şekil.4.12.	Pik D için ln T ₂ 'nin 1/T sıcaklığına göre değişim grafiği	62
Şekil.4.13.	Pik E için ln T ₂ 'nin 1/T sıcaklığına göre değişim grafiği	62
Şekil.4.14.	Pik F için ln T ₂ 'nin 1/T sıcaklığına göre değişim grafiği	62
Şekil 4.15.	Çizelge 4. 8'deki her bir pik için 1/T ₂ 'in konsantrasyona göre değişimini gösteren örneğin grafiği	65
Şekil 4.16.	Çizelge 4. 8'deki her bir pik için 1/T ₂ 'in konsantrasyona göre değişimini gösteren örneğin grafiği	66

KISALTMA VE SİMGELER

NMR	: Nükleer Manyetik Rezonans
ESR	: Elektron Paramanyetik Rezonans
$\Delta\delta$: Kimyasal Kayma Farkı
ΔR	: Durulma Zamanı Farkı
Δ	: Kimyasal Kayma
T	: Sıcaklık
T_g	: Eko zamanı
TR	: Tekrarlanma Zamanı
T_1	: Spin-Örgü Durulma Zamanı
T_2	: Spin-Spin Durulma Zamanı
R_f	: Radyofrekans
H	: Manyetik Alan
L	: Açısal Momentum
M	: Manyetik Moment
τ	: Korelasyon Zamanı
p	: Momentum
k	: Boltzman Sabiti

1. GİRİŞ

Genelde, bir atomu oluşturan çekirdek ve elektronların, üzerine uygulanan magnetik alanla etkileşmelerini inceleyen spektroskopi, sırasıyla, Nükleer Manyetik Rezonans (NMR) ve Elektron Paramagnetik Rezonans (ESR) adını alır. Çoğu zaman bu iki spektroskopiyi birden ifade eden Magnetik Rezonans deyimi de kullanılır.

Manyetik rezonans, 1945 yılında elektronun manyetik momenti ile mikrodalga enerjisinin etkileşmesi sonucu elektron paramanyetik rezonans yada elektron spin rezonans ve 1946 yılında da çekirdek manyetik momenti ile radyo frekans enerjisinin etkileşmesi sonucu nükleer manyetik rezonans adıyla doğmuştur.

Manyetik rezonans, bir spektroskopi aracı olarak kullanıldığı zaman :

- a) Rezonans çizgi genişliği
- b) Rezonans çizgi şiddeti
- c) Rezonans çizgi yarılmaları
- d) Rezonans çizgi kayması
- e) Rezonans çizgi şekli
- f) Durulma zamanları gibi fiziksel nicelikleri ölçer.

1945 yılında Bloch ve Purcell isimli fizikçilerin ilk NMR sinyalini gözlemelerinin ardından, 1953 yılında yalnız proton çekirdeklerini rezonansa getirebilen doğal mıknatısla çalışan manyetik alan şiddeti 60 MHz (1.41Tesla) olan cihaz bileşiklerin yapı tayininde kullanılmaya başlandı. 1957 yılında ^{13}C çekirdeklerinin sinyali Lauterbur tarafından gözlenmiş olsa da, ^{13}C NMR spektroskopisi ^{13}C çekirdeklerinin proton çekirdeklerine göre daha az duyarlı olması, bu spektroskopinin gelişimini bir süre ertelemiş olup, 1960 yılında ^{13}C çekirdeklerinden spektrum kaydedilmeye başlanmıştır. 1970 yıllarının başlarından itibaren gelişen teknoloji ile paralel olarak NMR spektroskopisi gelişmeye devam ederken, süper iletken mıknatıs özelliğine sahip sıvı helyum sıcaklığında çalışan cihazların kullanılmaya başlanması ile asıl önemini kazanmıştır. Günümüz teknolojisinde manyetik alan şiddeti 900 MHz (21.1 Tesla) olan cihazlar kullanılmaktadır.

Manyetik alan şiddeti ve ayırım gücü yüksek bu cihazlarda proton ve karbon çekirdeklerinin yanı sıra, spin kuantum numarası sıfırdan farklı olan ($I \neq 0$) ^{14}N , ^{19}F , ^{31}P gibi çekirdeklerinde rezonans sinyalleri kaydedilmektedir.

Manyetik rezonansın ilk uygulamaları, çekirdek fiziği, katıhal fiziği ve kimyasal fizik alanlarında olmuştur. Daha sonraları, düşük sıcaklıklar fiziği, biyofizik ve jeofizikte önemli uygulama alanları bulmuştur (Bloch 1946). Nükleer manyetik rezonansın Bloch tarafından kuramsal olarak ileri sürüldüğü 1946 yılını takip eden yıllarda deneysel olarak uygulamaya geçmiş ve organik bileşiklerin yapısı ve dinamik hareketleri üstüne çok başarılı sonuçlar vermiştir. Nükleer manyetik rezonans spektroskopisinin çok karmaşık bileşiklerin yapısal özelliklerini incelemeye gösterdiği bu başarısı onu daha sonraki yıllarda biyolojik sistemlerin incelenmesine yöneltmiştir.

Bunun sonucunda başlangıçta, fizik ve kimya gibi temel bilimlerde spektroskopik inceleme kolaylığı sağlayan manyetik rezonans, bugün tıpta klinik amaçlı çalışmalarda kullanılabilir bir araç olma yolundadır. Gerçekte, manyetik rezonansın öteki spektroskopik yöntemlerde bulunmayan durulma süreçlerini ölçme gibi bir üstünlüğe sahip olması, ona normal doku ile hastalıklı dokuyu birbirinden ayırt etme özelliğini sağlamaktadır. 1960'lı yıllarda bu amaçla yapılan durulma zamanları ölçümleri, normal doku ile kanserli dokuları birbirinden ayırt etmede son derece başarılı sonuçlar vermiştir (Slichter 1989).

Günümüzde, NMR cihazları ile organik kökenli bileşiklerin yapı tayinleri için geliştirilen teknoloji ve teknikler kullanılarak elde edilen bilgiler sayesinde, bileşiklerin konstitüsyon, konfigürasyon, konformasyonu tespit edilebilmektedir. NMR spektroskopisi kimyacıların kullanım alanının yanı sıra diğer bilim (Fizik, biyokimya, biyoloji, tıp ve eczacılık gibi) alanlarına çok önemli katkılar sunmaktadır.

Moleküler tanıma, modern organik kimyanın önemli bir konusudur. Bu bağlamda NMR tekniği, maddenin yapısı ve madde içindeki çeşitli molekül gruplarının dinamiğinin incelenip anlaşılabilmesinde temel bir öneme sahiptir ve bu teknik kullanılarak çeşitli molekül gruplarına ilişkin bağlanma sabitleri hesaplanarak, yapı ve molekül dinamikleri hakkında önemli bilgilere sahip olunabilmektedir.

Konu ile ilgili olarak bu güne kadar bu güne kadar pek çok araştırmacı tarafından NMR titrasyon ve T_1 (Kor, H.2012) metodları kullanılarak çeşitli molekül gruplarına ilişkin bağlanma sabitleri hesaplanmış ve bu sayede yapı ve molekül

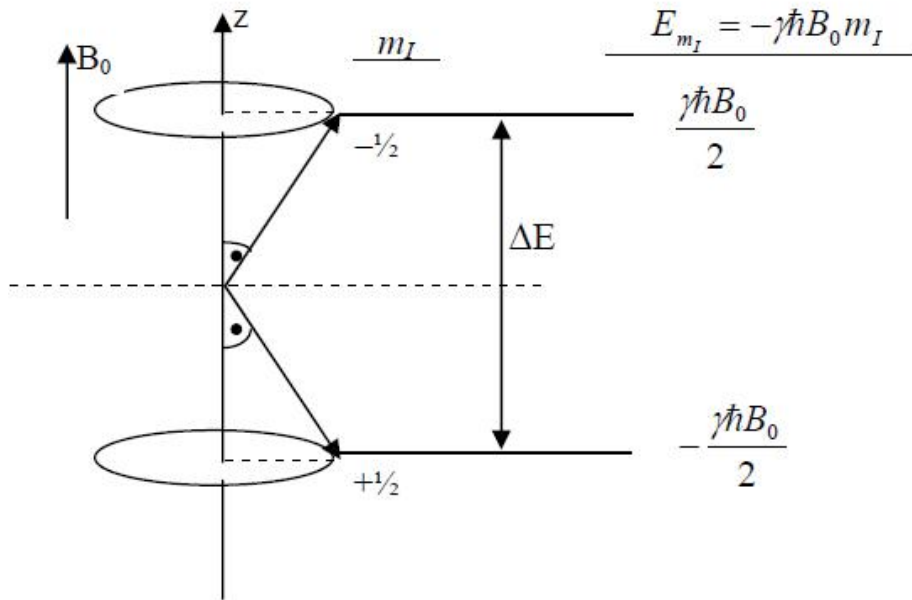
dinamikleri hakkında önemli bilgilere sahip olunabilmiştir. Ancak bu güne kadar hemen hemen bu çalışmalarla ilgili olarak T_2 (Benesi-Hildebrand denklemiyle modifiye edilmiş) yöntemi kullanılmamıştır. Dolayısıyla yapılan bu çalışmaların pek çoğunda gözlemlenemeyecek ölçüde hala muhtemel bazı zayıf kimyasal kayma etkilerinin olabileceği gerçeği dikkate alınarak hem kimyasal kaymalarda meydana gelen değişim hem de T_2 yöntemleri kullanılarak K_a bağlanma sabitleri hesaplandı.

Ayrıca kullanılan taç eterin moleküler dinamiğini anlamak için, $\ln T_2$ 'nin $1/T$ 'ye göre grafiksel değerlendirmesinden hareketle, E_a aktivasyon enerjileri ve τ_c ve τ_o ilgi zamanları hesaplandı.

2. KAYNAK ÖZETLERİ

2.1 Nükleer Manyetik Rezonans Spektroskopisi

NMR spektroskopisi, spini sıfırdan farklı olan çekirdekleri inceleyen bir spektroskopi dalıdır. NMR spektroskopisinde, çekirdek spininin (\vec{I}) oluşturmuş olduğu manyetik dipol momentinin dış manyetik alan ile etkileşmesi sonucunda oluşan enerji seviyeleri arasında rezonans geçişleri gözlenmektedir. Geçişler esnasında yayınlanan ışığın dalga boyu radyo dalgası bölgesine düşmektedir. Böylece, NMR spektrumlarından faydalanılarak incelenen örneğin yapısı ve örnekteki çekirdeklerin çevresi hakkında bilgi edinilmeye çalışılmaktadır.



Şekil 2.1. Spini $\frac{1}{2}$ olan bir çekirdeğin B_0 dış manyetik alana konulduğunda oluşan yönelimler.

Spini $-\frac{1}{2}$ olan çekirdekler bir \vec{B}_0 dış manyetik alanına konulduğunda Şekil 2.1'de gösterildiği gibi iki ayrı enerji seviyesine yarırlırlar. NMR spektroskopisini daha iyi anlamak için dış bir manyetik alan içine konan bir çekirdeğin rezonans durumunu incelemek gerekir. \vec{I} spinli bir çekirdeğin oluşturduğu manyetik dipol moment,

$$\vec{\mu}_I = g_I \frac{\mu_N}{\hbar} \vec{I} = \gamma \vec{I} \quad (2.1)$$

ifadesinden hesaplanmaktadır. Burada $\gamma = \frac{g_I \mu_N}{\hbar}$ dır ve çekirdeklere özgü jromanyetik oran olarak isimlendirilir.

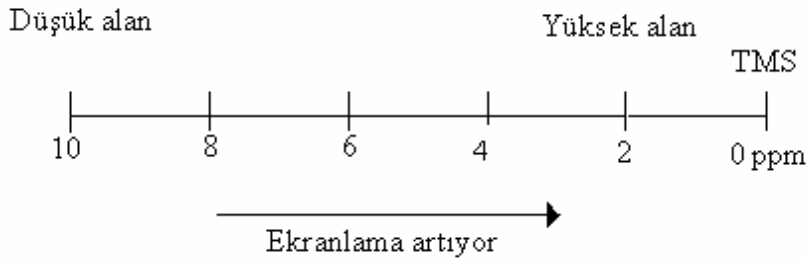
İncelenen bir molekülde her bir çekirdek uygulanan dış manyetik alanı aynı şiddette görmeyebilir. Çünkü çekirdek etrafındaki elektronların uygulanan dış alana karşı zıt ya da aynı yönde oluşturacakları manyetik alanlar nedeniyle çekirdekler perdelenmektedir. Bu perdelemeden dolayı çekirdeklerin göreceği net dış manyetik alan daha zayıf ya da şiddetli olacaktır. Bu bilgiden sonra sabit dış manyetik alan yerine çevreye bağlı olarak değişen etkin bir manyetik alandan bahsetmek daha doğru olacaktır. σ' perdeleme sabiti olmak üzere etkin manyetik alan;

$$B_{\text{etkin}} = B_0 - \sigma B_0 \quad (2.2)$$

şeklinde yazılır. Bu durumda rezonans frekansı için;

$$\nu = \frac{\gamma B_0 (1 - \sigma)}{2\pi} \quad (2.3)$$

yazılır. Bu olaya kimyasal kayma denilmektedir (şekil 2.2). (Slichter, 1984).



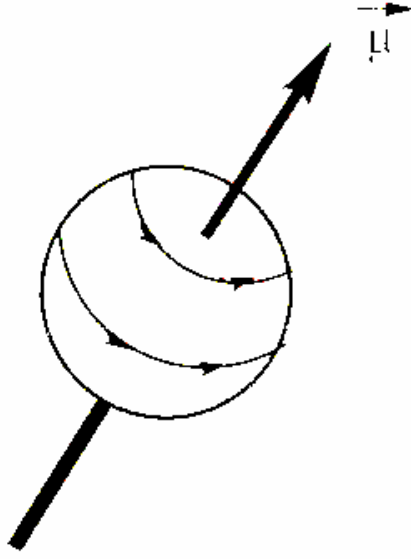
Şekil 2.2. Proton nmr'ı için kimyasal kayma gösterimi.

2.2. Atom Çekirdeğinin Manyetik Özelliği

Nükleer manyetik rezonans spektroskopisinin temeli, çekirdeğin manyetik özelliğine dayanır. Atom çekirdeğindeki manyetizmayı basit şekilde şöyle açıklayabiliriz. Atom çekirdeğini küre biçiminde ve merkezinden geçen eksen etrafında dönen bir cisim olarak düşünülebilir. Çekirdekte proton bulunduğundan, çekirdek

pozitif artı (+) yüklüdür. Çekirdek kendi eksenini etrafında döndüğünden, pozitif yükte bu eksen etrafında bulunan dairesel yörüngelerde hareket edecektir.

Bu yükün belli bir yörünge üzerindeki hareketi, elektrik akımından başka bir şey değildir. Her elektrik akımı çevresinde bir manyetik alan oluşturur. Eksenini etrafında dönen bir atom çekirdeği de, yüklü olması nedeniyle çevresinde bir manyetik alan meydana getirir. Bu nedenle atom çekirdekleri de bir mıknatıs gibi davranırlar. Çekirdeğin oluşturduğu manyetik alanın bir manyetik momenti vardır.



Şekil 2.3. Atom çekirdeğinin hareketinin şematik olarak gösterilmesi. Manyetik moment μ ile gösterilir.

Klasik fizikten bilindiği üzere, kendi eksenini etrafında dönen bir cisim, gibi bir açısal momentuma sahiptir. Atom çekirdeği de kendi eksenini etrafında döndüğünden, çekirdeğin de açısal momentumu vardır. Çekirdeğin eksenini etrafında dönmesi olayına L **çekirdek spin**'i denir.

Bir çekirdeğin açısal momentumu ile manyetik momenti arasında

$$\mu = \gamma \cdot L \quad (2.4)$$

bağıntısı vardır.

L = açısal momentum

γ = jiromanyetik sabit

μ = manyetik moment

2.3. Çekirdek Spin Kuantum Sayısı

Bir elementin NMR'da aktif olup olmaması (NMR ile incelenip veya incelenememesi) ilgili çekirdeğin spin kuantum sayısına bağlıdır. Elektronlarda olduğu gibi atom çekirdeğinin de spin kuantum sayısı vardır. Çekirdeğin spin kuantum sayısı I, çekirdekte bulunan proton ve nötronların sayısına göre değişmektedir. Bir elementin izotopları farklı kuantum sayısına sahiptir. Eğer bir çekirdekte proton ve nötron sayısı çift ise, bu parçacıkların dönüşümleri birleşir, yani bir nükleon bir yönde dönecekse diğer nükleon aksi yönde döner ve çekirdek toplam net dönüşüm göstermez. Bu nedenle spin kuantum sayısı $I = 0$ 'dır. Bir elementin NMR spektroskopisinde gözlenebilmesi için o elementin spin kuantum sayısının $I > 0$ olması gerekir.

2.4. Atom Çekirdeklerinin Manyetik Alanda Davranışı

Atom çekirdeğinin en önemli özelliklerinden birisi, çekirdeğin kendi ekseninde dönmesi sonucu oluşan manyetik moment ve açısal momentumdur. Klasik fizikte açısal momentum her değeri alabilir. Kuantum fiziğinde ise durum tamamen farklı olup, açısal momentum her değeri alamaz. Açısal momentumun alabileceği değerler kuantumlanmıştır. Kuantum fiziğinde açısal momentum

$$L = h.m/2\pi = \hbar m \quad (2.5)$$

formülü ile ifade edilir. Burada sırasıyla h Planck sabiti, m ise manyetik kuantum sayısını ifade eder. Formülden çıkan sonuca göre, bir çekirdeğin açısal momentumu, o çekirdeğin manyetik kuantum sayısına bağlıdır. Bir çekirdeğin manyetik kuantum sayısı ile spin kuantum sayısı arasında

$$m = 2I+1 \quad (2.6)$$

bağıntısı vardır. Spin kuantum sayısı $I = 1/2$ olan proton için manyetik kuantum sayısı, denklem (2.6)'dan kolayca bulunur.

$$m = 2 \cdot \frac{1}{2} + 1 \quad (2.7)$$

Bu değer, protonun iki farklı manyetik kuantum sayısına sahip olduğunu gösterir. $m = 2$ ifadesi, manyetik alan içerisine getirilen bir çekirdeğin, iki farklı enerji seviyesine yarılabacağı anlamına gelmektedir. Manyetik kuantum sayıları, spin kuantum sayısı $+I$ ve $-I$ değerleri arasında bulunan tüm değerleri alırlar. Ancak, iki kuantum sayısı arasındaki fark $\Delta m = \pm 1$ olmalıdır.

Açısal momentum manyetik kuantum sayısına göre değişmektedir. Denklem (2.6) de manyetik kuantum sayısı m 'nin değerlerini yerine koyarsak, açısal momentumun değerleri bulunur. Açısal momentum ile manyetik momentum arasındaki bağıntıyı tekrar yazarsak,

$$\mu = L \cdot \gamma$$

bu formül de açısal momentum L 'nin değerini yerine koyarsak

$$\mu = m \cdot \hbar \cdot \gamma \quad (2.8)$$

formülünü elde ederiz. Manyetik moment değerlerinin, manyetik kuantum sayısına bağlı olduğu görülmektedir. Bu da bize manyetik momentin de kuantumlu olduğunu göstermektedir.

2.5. Manyetik Bir Dipolün Manyetik Alanda Enerjisi

Manyetik bir dipol, şiddeti H_0 olan manyetik bir alan içerisine getirildiği zaman, dipolün belirli bir potansiyel enerjisi oluşur. Bu enerji, manyetik alanın şiddetine ve dipolün manyetik momentine bağlı olup,

$$E = -\mu \cdot H_0 \quad (2.9)$$

şeklinde ifade edilir.

Manyetik momentin (2.8) denklemindeki değerini (2.9) denkleminde yerine konulursa, yeni bir enerji formülü,

$$E = -\gamma \hbar m H_0 \quad (2.10)$$

elde edilir. Açısal momentum ve manyetik momentte olduğu gibi, bir dipolün manyetik alan içerisinde alabileceği enerji değerleri kuantumludur. Dipolün sahip olabileceği enerji seviyesi sayısı, manyetik kuantum sayısına, dolayısıyla spin kuantum sayısına bağlıdır. Protonun spin kuantum sayısı $I = 1/2$ olduğundan, manyetik kuantum sayıları

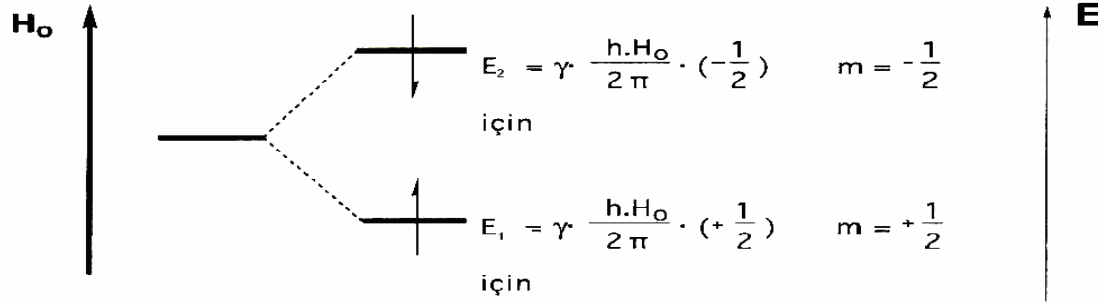
$$m_1 = +1/2 \text{ ve } m_2 = -1/2 \text{ dir.}$$

Protonun iki farklı kuantum sayısı olduğundan (2.10) denklemine göre, protonun manyetik alanda iki farklı enerji seviyesi vardır. Bu enerji seviyeleri

$$E_1 = -\gamma \hbar H_0 (1/2) \quad m = +1/2 \text{ için} \quad (2.11)$$

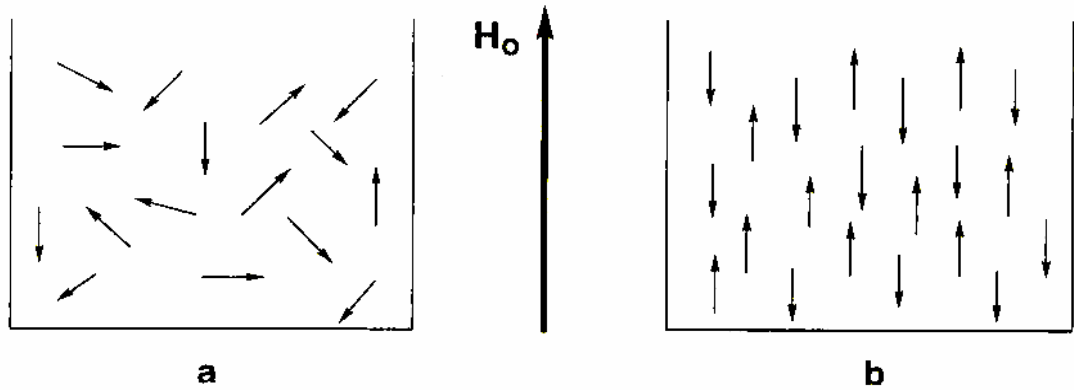
$$E_2 = -\gamma \hbar H_0 (-1/2) \quad m = -1/2 \text{ için} \quad (2.12)$$

şeklinde ifade edilir. (2.11) ve (2.12) nolu denklemleri ile gösterilen enerji değerleri, protonun manyetik alanda oluşturduğu enerji seviyeleridir. Proton homojen ve statik bir manyetik alan içerisine getirildiği zaman, manyetik moment gelişi güzel yönlenebilir. Manyetik momentin manyetik alanda yönlenebilmesi kuantumludur. Uygulanan H_0 dış manyetik alanın belli bir yönü olduğundan, protonun manyetik momenti, manyetik alanın yönü ile paralel veya antiparalel olarak yönlendirilir. Böylece protonun manyetik alanda iki farklı yönlenebilmesi mümkündür. Bu farklı yönlenebilme durumlarında, (2.11) ve (2.12) denklemlerinde görüleceği gibi, protonun enerji seviyesi değişir olur. Eğer protonun manyetik momenti dış manyetik alan ile paralel ise, protonun potansiyel enerjisi daha düşüktür.



Şekil 2.4. Protonun manyetik alanda yönelmesi ve farklı enerji seviyelerinin gösterilişi.

Manyetik bir alan olmadığı zaman, manyetik moment geliş her yönde yönelir şekil 2-5(a). Bu durumda tüm protonların enerji seviyeleri dejenere olmuştur. Manyetik alan olduğu zaman manyetik momentler ya manyetik alana paralel ya da antiparalel yönelirler şekil 2-5(b).



Şekil 2.5.(a) Proton spinlerinin manyetik alanın olmadığı bir durumda davranışı.

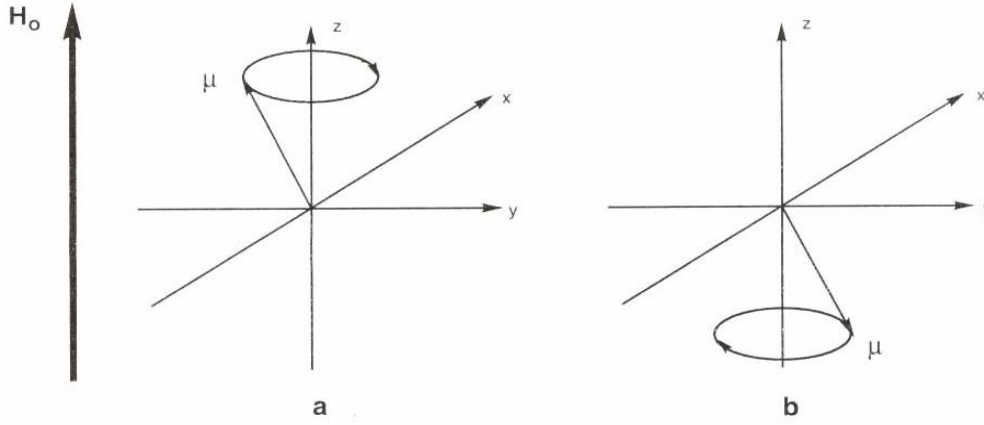
(b) Proton spinlerinin homojen bir manyetik alanda davranışı.

2.6. Rezonans Kavramı

Manyetik bir dipol (atom çekirdekleri) homojen bir manyetik alan içerisine getirildiği zaman, manyetik alan ile çekirdeğin manyetik momenti arasında bir etkileşim meydana gelir. Bu etkileşimde dış manyetik alan, çekirdeğin manyetik momentini kendisi ile aynı yöne yönlendirmek için bir etki yapar. Çekirdeğin manyetik momenti de

buna karşı koymak ister ve dış manyetik alanın yönlendiği eksen etrafında bir presesyon hareketi yapar. O halde, bir çekirdek manyetik alan içerisine getirildiği zaman, çekirdeğin manyetik momenti dış manyetik alan ile statik bir yönelme yapmaz, aksine dinamik bir presesyon hareketi uygular.

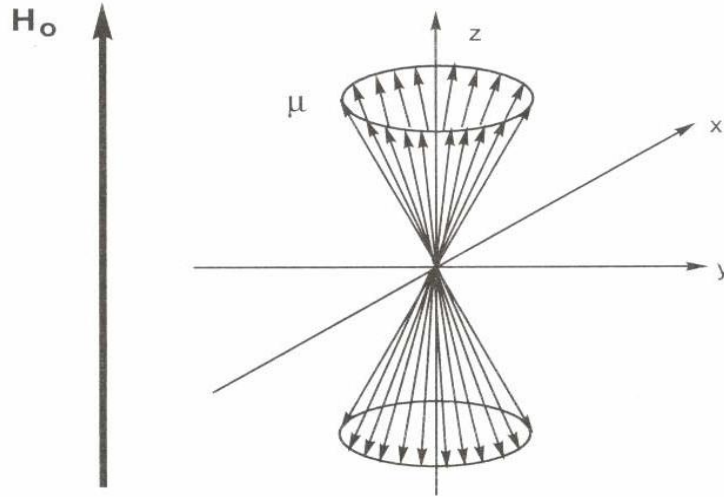
Manyetik alan içerisine getirilen çekirdeklerin bir kısmı dış manyetik alana paralel yönelirken bir kısmı da antiparalel yönelir. Antiparalel yönelen çekirdekler de yukarıda bahsedildiği gibi, bir presesyon hareketi yaparlar. Paralel ve antiparalel yönelen çekirdeklerin presesyon hareketleri şekil 2-6'da görülmektedir.



Şekil 2.6 (a) Manyetik alan ile paralel yönelmiş bir çekirdeğin presesyon hareketi.

(b) Manyetik alan ile antiparalel yönelmiş bir çekirdeğin presesyon hareketi.

Bir numuneyi incelerken tek bir çekirdeği ele almak uygun değildir. Makroskopik bir numunede tüm çekirdekleri göz önüne almak gerekir. Boltzman enerji dağılım yasasına göre, enerji seviyeleri yüksek olan, yani dış manyetik alanla antiparalel yönelen presesyon hareketi yapan çekirdeklerin sayısı, paralel yönelenlere göre daha azdır. Aynı yöne yönelmiş olan çekirdeklerin manyetik momentleri şekil 2-7'de görüldüğü gibi, istatistiksel olarak bir koni üzerinde dağılırlar.



Şekil 2.7. Makroskopik bir numunede paralel ve antiparalel yönlendirilmiş çekirdeklerin presesyon hareketlerinin toplu bir şekilde görünümü.

Çekirdeklerin manyetik momentleri, dış manyetik alan etrafında belli bir frekans ile presesyon hareketi yaparlar. Bu frekansa **Larmor frekansı** denir. Larmor frekansı, rezonans koşulunda olduğu gibi, manyetik alanın şiddetine ve ilgili çekirdeğin jiromanyetik sabitine bağlıdır.

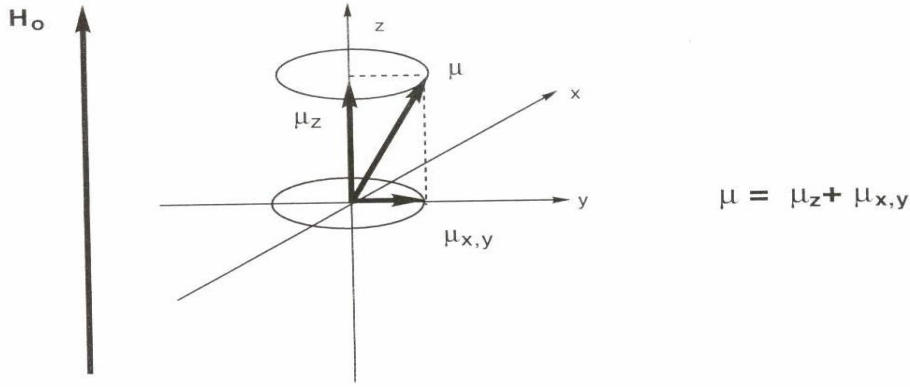
$$\omega_0 = \frac{\gamma H_0}{2\pi} \quad (2.13)$$

ω_0 = Larmor presesyon frekansı

H_0 = Dış manyetik alanın şiddeti

γ = jiromanyetik sabit

Manyetik moment bir vektör olduğundan, bu vektörün z- yönünde ve xy- düzleminde, şekil 2-8'de görüldüğü gibi komponentleri vardır. Makroskopik bir numunede, manyetik momentler bir koni üzerinde istatistiksel bir şekilde dağılmış olduklarından bunların xy- düzleminde bulunan komponentleri, bu düzlem üzerinde her yerde dağılır ve bu vektörlerin toplam değeri sıfırdır.

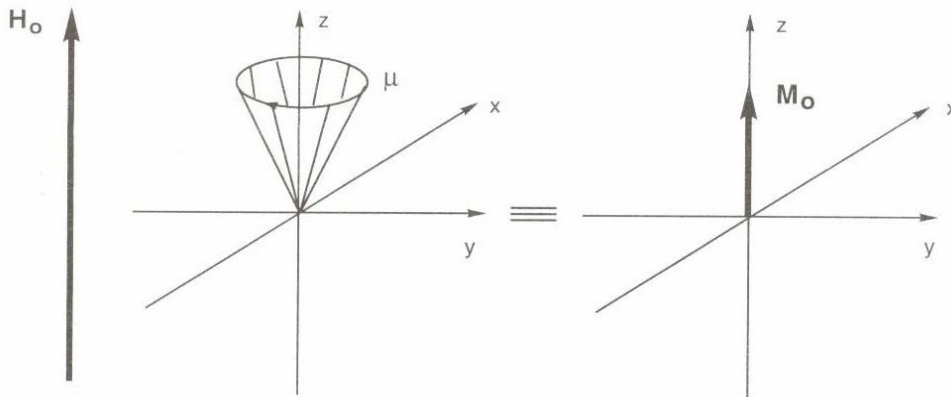


Şekil 2.8. Manyetik momentin z ekseninde ve xy -düzleminde olan bileşenleri.

Başka bir deyimle

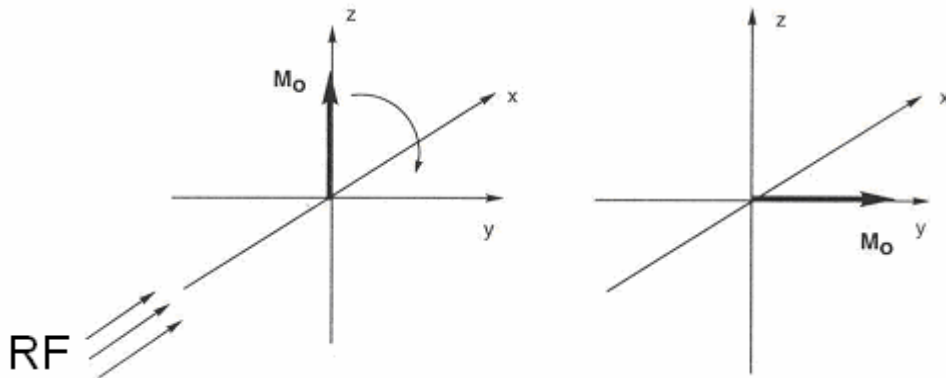
$$\sum \mu_{x,y} = 0$$

formülünden, manyetik momentin xy- düzleminde bir mıknatıslanma gözlenmez. Diğer taraftan manyetik moment μ 'nün z- yönündeki bileşenlerinin tümü aynı yönde olduğundan vektörler toplanır ve şekil 2-7'de görüldüğü gibi toplam bir M_0 mıknatıslanması gözlenir.



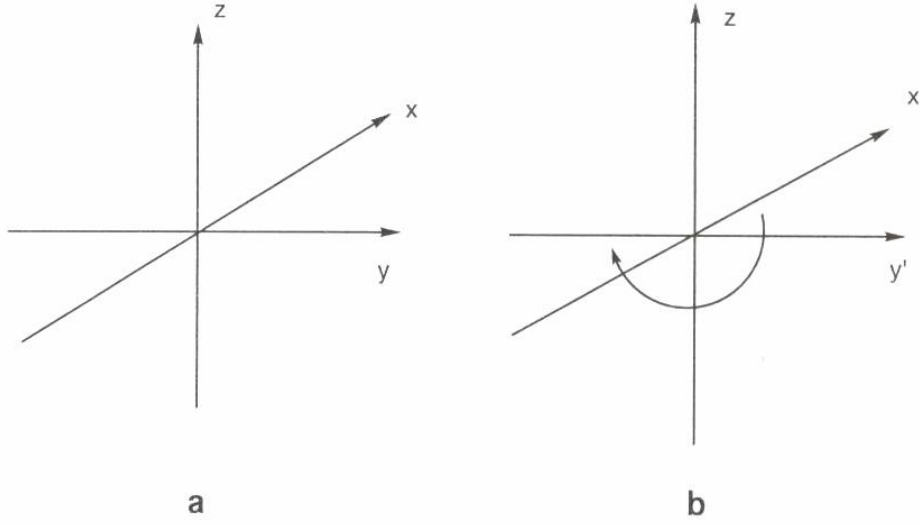
Şekil 2.9. Makroskopik bir numunede boyuna (longitudinal) mıknatıslanma M_0

Burada protonların z-yönünde farklı yönleneceği sonucu zıt yönlü iki mıknatıslanma meydana gelmektedir. Ancak, paralel yönelen çekirdeklerin sayısı antiparalel yönelen çekirdeklerin sayısından her zaman için fazla olduğundan, net mıknatıslanma z- yönünde ve dış manyetik alana paralel olur. Bu mıknatıslanmaya boyuna (longitudinal) mıknatıslanma denir. x yönünde sisteme lineer polarize radyo frekans alanı gönderilir. Klasik fizikten bilindiği gibi, lineer polarize bir elektromanyetik dalga, birbirine zıt yönde hareket eden iki sirkular polarize elektromanyetik dalgadan oluşur. Sirkular polarize komponentlerden birisi Larmor frekansı ile aynı yönde olduğundan, etkileşme yalnız bir komponentle gerçekleşir. Çekirdeklerin Larmor frekansı ile döner manyetik alanın açısal hızı eşit olduğunda, radyo frekans alanı ile çekirdeklerin manyetik momentleri arasında bir etkileşim olur ve daha önce z- yönünde yönelmiş olan boyuna mıknatıslanmanın (\vec{M}_0) yönü değişerek y-yönüne doğru çevrilir. Mıknatıslanma y- yönüne doğru çevrildikten sonra, mıknatıslanma vektörü xy- düzleminde Larmor frekansı ile rotasyon hareketine devam eder. \vec{M}_0



Şekil 2.10. Makroskopik bir numunede longitudinal mıknatıslanma'nın rf alanı etkisi ile y yönüne çevrilmesi.

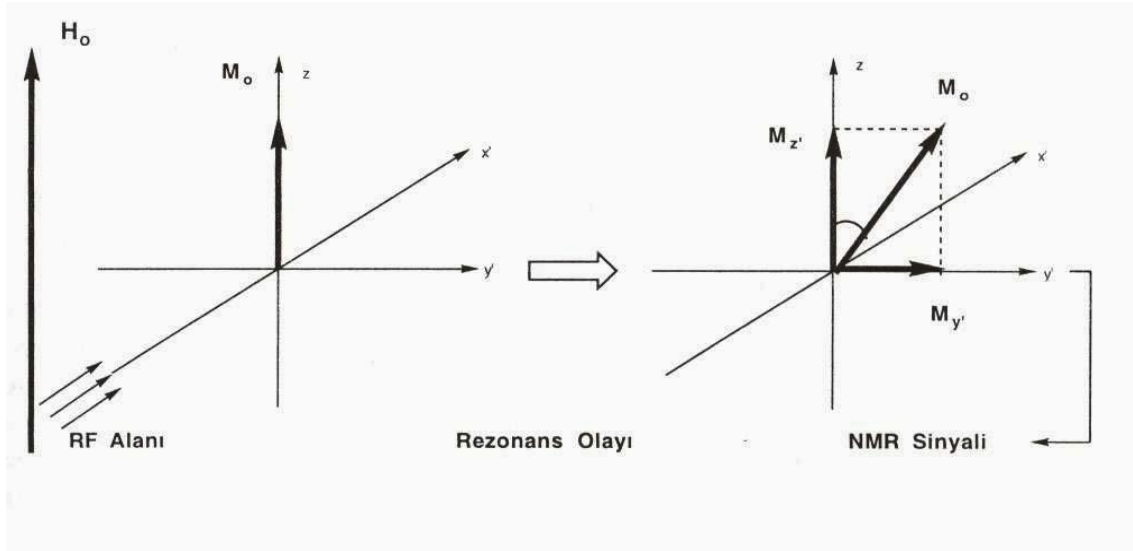
Bundan sonra gelişecek olan olayların daha iyi anlaşılabilmesi için Trossey tarafından döner koordinat sistemi geliştirildi. Döner koordinat sisteminde xy- düzlemi, z- eksenini etrafında Larmor frekansı ile dönmektedir.



Şekil 2.11.(a) Normal sabit koordinatlar (Laboratuvar Koordinatları).

(b) Trossey tarafından geliştirilen döner koordinatlar.

Bu koordinat sisteminde eksenleri z , x' ve y' şeklinde alındı. Sabit koordinat sisteminde mıknatıslanma vektörü $M_{y'}$ xy' - düzleminde Larmor frekansı ile dönerken, döner koordinat sisteminde y' - yönünde sabit kalmaktadır. Mıknatıslanmanın rf alanının etkisi ile y' - yönüne çevrilmesine **rezonans olayı** denir. RF alanı belli bir süre makroskopik mıknatıslanma üzerine etki ederse çekirdeklerin manyetik momentlerinin oluşturduğu koni, etki süresine bağlı olarak, z - ekseninden saparak, y' - istikametine yönelir ve y' - eksenini doğrultusunda gözlenen mıknatıslanma ne kadar fazla ise, gözlenen sinyalin şiddeti o oranda fazla olur. RF alanı ne kadar uzun süre etki ederse, y' - yönünde oluşan mıknatıslanma o kadar fazla olur. Sonuçta daha şiddetli bir sinyal gözlenir (Balcı 2004). \vec{M}_0



Şekil 2.12. RF alanı ile etkileşmesi sonucu, mıknatıslanmasının y' eksenine doğru \vec{M}_0 çevrilmesi ve y' yönünde bir mıknatıslanmanın oluşumu.

2.7. Soğurulan Enerji

Rezonans olayının gözlemlendiği sistem yalıtık bir sistem olsun. Bir manyetik sistemin yalıtık olması demek, manyetik spinlerin, içinde bulunduğu yapının öteki elemanlar ile etkileşmemesi demektir. Bir manyetik sistemde manyetik rezonansı oluşturan manyetik spinlerin dışındaki bu yapıya örgü adı verilir; katı, gaz ya da sıvı olabilir.

O halde, yukarıdaki varsayıma göre manyetik spinlerin örgü ile etkileşmesine izin verilmemiştir. Ayrıca manyetik sistemin spin kuantum sayısı $1/2$ olsun. Böyle bir sistem, bir dış manyetik alan içine yerleştirildiği zaman spinler şekil 2-12 deki gibi yönelme kazanırlar.

Şiddeti H_0 ile gösterilen manyetik alanla aynı yönde yönelme $|\alpha\rangle$ düzeyi, ters yönde yönelme ise $|\beta\rangle$ olarak adlandırılınsın. Ayrıca $|\alpha\rangle$ düzeyine karşı gelen enerji E_α , spin sayısı N_α olsun. Benzer şekilde, $|\beta\rangle$ düzeyine karşı gelen enerji E_β ve spin sayısı N_β olsun. Manyetik sistemde ısı dengesi kurulduğunda, spinlerin sayısı,

$$\frac{N_\alpha}{N_\beta} = e^{\frac{E_\beta - E_\alpha}{kT}} = e^{\frac{\Delta E}{kT}} \quad (2.14)$$

Maxwell Boltzman yasası ile belirlenir. Bu ifade yaklaşık olarak

$$\frac{N_\alpha}{N_\beta} \sim 1 + \frac{\Delta E}{kT} \quad (2.15)$$

şeklinde yazılır ve normal sıcaklıklarda $\Delta E \ll kT$ olduğu için iki düzey arasındaki spin farkı çok küçüktür. Şimdi sisteme, sistemin doğal frekansı ile uyum içinde olabilecek frekansa sahip bir dış etken olan rf alanını uygulayalım. Bu uygulanan rf alanı, $|\alpha\rangle$ ve $|\beta\rangle$ düzeyleri arasında, olasılıkları $P_{\alpha\beta}$ ve $P_{\beta\alpha}$ olan geçişleri oluştururlar. Böylece, $|\alpha\rangle$ ve $|\beta\rangle$ düzeylerindeki spin sayılarında,

$$\frac{dN_\alpha}{dt} = N_\beta P_{\beta\alpha} - N_\alpha P_{\alpha\beta} \quad (2.16)$$

$$\frac{dN_\beta}{dt} = N_\alpha P_{\alpha\beta} - N_\beta P_{\beta\alpha} \quad (2.17)$$

bağıntıları ile gerçekleşen değişimler şeklinde olup, bu bağıntılara spin değişim denklemleri denir. Buna göre bir dt değişim süresi içinde $|\alpha\rangle$ düzeyindeki spin sayısının değişimi, bu düzeye gelen spin sayısı ile bu düzeyden giden spin sayısının farkına eşit olacaktır.

Sistemdeki toplam spin sayısı, $N = N_\alpha + N_\beta$ ve düzeyler arasındaki spin farkı,

$$n = N_\alpha - N_\beta \text{ ise}$$

$$N_\alpha = (N+n)/2$$

$$N_\beta = (N-n)/2 \quad (2.18)$$

dir. Öte yandan $P_{\alpha\beta}$ ve $P_{\beta\alpha}$ olasılıkları, dış etkene karşı gelen enerji hamiltonyeninin matris elemanlarına bağlı olduğu için kuantum mekaniğinin bir sonucu olarak,

$$P = P_{\alpha\beta} = P_{\beta\alpha} \quad (2.19)$$

dır. Bu son iki bağıntı denklem (2.10) bağıntısının ilkinde kullanılırsa, $|\alpha\rangle$ düzeyindeki spin sayısının değişimi,

$$\frac{dn}{dt} = -2Pn \quad (2.20)$$

bulunur. Böyle bir diferansiyel denklemin çözümü,

$$n = n(0) e^{-2pt} \quad (2.21)$$

dir. Burada $n(0)$, $t = 0$ 'da $|\alpha\rangle$ ve $|\beta\rangle$ düzeyleri arasındaki spin farkıdır.

Öte yandan geçiş olasılığı P olan bir tek spinin dış etkenden soğuracağı enerji $P\Delta E$ 'dir. $|\alpha\rangle$ düzeyinde N_α tane spin olduğuna göre bu düzeydeki tüm spinler $N_\alpha P\Delta E$ kadar enerji soğururlar. O halde dış etkenden net olarak soğurulan enerjideki değişim ya da birim zamanda net soğurulan enerji,

$$\begin{aligned} \frac{dE}{dt} &= N_\alpha P\Delta E - N_\beta P\Delta E \\ &= P\Delta E(N_\alpha - N_\beta) \\ &= \Delta EPn \end{aligned} \quad (2.22)$$

olacaktır. Demek ki, soğurulan enerjinin zamana göre değişimi düzeyler arasındaki spin sayısı farkına bağlıdır. Manyetik rezonansta spin sisteminin dış etkenden net bir enerji soğurması için düzeyler arasındaki spin farkının sıfır olmaması gerekir. Bu durum spin-örgü etkileşmesi denen bir olayla gerçekleşir .

2.8. Spin - Örgü Etkileşmesi

Bir spin sisteminde bir spektrum kaydettikten sonra, aynı sistemden ikinci bir spektrum alınabilmesi için önce o sistemin tekrar eski konumuna gelmesi gerekir. Bu olaya durulma denir.

1) Spin-Örgü Durulması T_1

2) Spin-Spin Durulması T_2

olarak iki farklı durulma olayı vardır. y' doğrultusunda oluşan mıknatıslanmaya transversal mıknatıslanma ve transversal mıknatıslanmanın kaybolması için geçen zamana spin-spin durulma zamanı (T_2) denir. y' - eksenini doğrultusundaki mıknatıslanma $M_y=0$ olacaktır. Çekirdeklerin enerjilerini çevreye vererek tekrar eski konumlarına gelmeleri için geçen zamana spin-örgü durulma zamanı T_1 denir. Spin-örgü durulma zamanı her zaman için spin-spin durulma zamanından $T_1 > T_2$ büyüktür. Bunun aksi kesinlikle olamaz. Çünkü boyuna durulma sona ermiş ise, transversal durulmanın devam etmesi mümkün değildir. Spin-spin durulması bir entropi olayıdır. Spinlerin dönme hızlarının farklı olmasından ve bunların istatistiksel dağılımından kaynaklanmaktadır. Halbuki spin-örgü durulması bir enerji alış verişi olduğu için tamamen bir entalpi olayıdır. (2.21) bağıntısına göre zamanla n spin sayısı farkının sıfıra gitmesi demek dN_α/dt ' nin sıfır olması, yani $|\alpha\rangle$ düzeyindeki spin sayısının değişmemesi demektir. α düzeyindeki spin sayısının değişmesi $|\beta\rangle$ düzeyindeki spinlerin bu düzeye geçmelerine bağlıdır. $|\beta\rangle$ düzeyindeki spinlerin $|\alpha\rangle$ düzeyine geçmelerinin tek yolu, enerjilerini herhangi bir şekilde başka bir sisteme aktarmalarıdır. Bu ise, spin sisteminin örgü ile etkileşmesini gerektirir. Spin sisteminin bu şekilde örgü sistemine enerji aktarması olayına spin-örgü etkileşmesi adı verilir.

Spin örgü etkileşmesi, sistemin sıcaklığı göz önüne alınarak açıklanabilir. Spin sistemi başlangıçta örgü ile ortak bir T_0 sıcaklığında ısı dengede olsun. Spin sistemi, dış etkenden enerji soğurduğu zaman sıcaklığı artacaktır ve yalıtık olduğu için de bir süre sonra $T \gg T_0$ olacak şekilde yeni bir sıcaklığa ulaşacaktır. Böylece spin sistemi ile örgü arasındaki ısı dengesi bozulur. Isı dengenin kurulmasının tek yolu, spin sisteminin

enerjisinin örgüye aktararak yeniden ısı dengeye ulaşmasıdır. Bunun içinde örgüyle etkileşmesi gerekir.

Böylece spin örgü etkileşmesi sonucu, $|\alpha\rangle$ ve $|\beta\rangle$ düzeyleri arasında başka tür geçişler oluşur. $|\alpha\rangle$ düzeyinden $|\beta\rangle$ düzeyine spinlerin geçiş olasılığını $W_{\alpha\beta}$ ve ters yöndekine de $W_{\beta\alpha}$ ile gösterirsek, düzeyler arasındaki spin değişim denklemleri

$$\frac{dN_{\alpha}}{dt} = N_{\beta} W_{\beta\alpha} - N_{\alpha} W_{\alpha\beta}$$

ve (2.23)

$$\frac{dN_{\beta}}{dt} = N_{\alpha} W_{\alpha\beta} - N_{\beta} W_{\beta\alpha}$$

yazılır. Burada, toplam spin sayısı $N = N_{\alpha} + N_{\beta}$ ve düzeyler arasındaki spin farkı $n = N_{\alpha} - N_{\beta}$ tanımlarını kullanarak,

$$\frac{dN_{\alpha}}{dt} = \frac{1}{2} \cdot \frac{dn}{dt} = \frac{N-n}{2} \cdot W_{\beta\alpha} - \frac{N+n}{2} \cdot W_{\alpha\beta}$$
(2.24)

Yazılır. Matematiksel işlemler yapıldıktan sonra

$$\frac{dn}{dt} = (W_{\alpha\beta} + W_{\beta\alpha}) \left(N \cdot \frac{W_{\beta\alpha} - W_{\alpha\beta}}{W_{\alpha\beta} + W_{\beta\alpha}} - n \right)$$
(2.25)

bulunur. Burada

$$W_{\alpha\beta} + W_{\beta\alpha} = \frac{1}{T_1}$$
(2.26)

ve

$$N \cdot \frac{W_{\beta\alpha} - W_{\alpha\beta}}{W_{\alpha\beta} + W_{\beta\alpha}} = n_0 \quad (2.27)$$

tanımları yapılırsa,

$$\frac{dn}{dt} = \frac{n_0 - n}{T_1} \quad (2.28)$$

bağıntısı bulunur ve çözümden de,

$$n = n_0(1 - e^{-t/T_1}) \quad (2.29)$$

elde edilir.

$W_{\alpha\beta}$ ve $W_{\beta\alpha}$ geçiş olasılıkları (1/s) biriminde olduğu için T_1 (s) biriminde, yani zamanı gösteren bir niceliktir ve sistemin yeniden ısı dengeye ulaşması için gerekli sürenin ölçüsüdür. T_1 'e spin örgü durulma zamanı denir. Denk (2.28) de T_1 ne denli büyük ise düzeylerdeki spin sayısındaki değişme o denli az olur. Yani T_1 büyük olduğu durumlarda spin örgü etkileşmesi yavaş olur.

O halde manyetik rezonans olayının gerçekleşmesinde önemli rol oynayan düzeyler arasındaki spin farkı denklem (2.20) ve (2.21) bağıntılarının toplamı olacaktır.

$$\frac{dn}{dt} = \frac{n_0 - n}{T_1} - 2P_n \quad (2.30)$$

Kararlı duruma ulaştığı zaman $dn/dt=0$ olacağı için $|\alpha\rangle$ düzeyindeki spin fazlalığı ,

$$n = \frac{n_0}{1 + 2pT_1} \quad (2.31)$$

olacaktır. O halde dış etkenden soğurulan enerjideki değişimi,

$$\frac{dE}{dt} \approx \Delta E \frac{p}{1 + 2pT_1} n_0 \quad (2.32)$$

olmalıdır. Bu bağıntı iki ayrı durum için incelenir.

1) $2pT_1 \ll 1$ olsun durumda

$$n \approx n_0$$

$$\frac{dE}{dt} \approx \Delta E p n_0 \quad (2.33)$$

olacaktır. $2pT_1$ dolayısı ile rf küçük değerlerden başlamak üzere artırılırsa soğurulan enerji değişimi doğrusal olarak artar.

2) $2pT_1 \gg 1$ olsun. Bu durumda

$$n \approx \frac{n_0}{2pT_1}$$

$$\frac{dE}{dt} \approx \frac{n_0 \Delta E}{2T_1} \quad (2.34)$$

olacaktır. $2pT_1$ dolayısı ile rf enerjisi büyük değerlerden başlamak üzere daha da artırılırsa düzeyler arasındaki spin farkı sifira yaklaşırken soğurulan enerjide bir değişim olmaz. Bu duruma manyetik rezonansta doyma durumu denir. $2pT_1$ teriminin büyük olması P'nin büyüklüğüne bağlı olduğu kadar T_1 'in de büyük olmasına bağlıdır. Bu nedenle spin örgü durulma zamanı T_1 'in çok büyük olması, durulma etkileşmesinin yavaş ve buna karşılık doyma durumunun çabuk olması anlamına gelir.

2.9. Durulma Mekanizmaları

Rezonans halinde olan bir çekirdeğin fazla enerjisini örgüye vererek tekrar eski konumuna gelmesi gerekir. Bunun için çekirdeğin çevresinde çekirdeğin Larmor frekansına eşit olan döner bir manyetik alanın olması gerekir. Çekirdeklerin durulması için gerekli bu döner manyetik alanlar çekirdeğin etrafında mevcuttur. Moleküllerin belli istikamette translasyon hareketleri, rotasyon hareketleri, molekül içinde bazı grupların rotasyonu, bağların titreşimi, bir molekülde gözlenebilen dinamik olaylardan bazılarıdır. Rotasyon ve translasyon hareketleri, genelde frekansları yerine, **korelasyon zamanları** (τ_c) ile tanımlanır. Korelasyon zamanı, translasyon hareketlerinde iki çarpma arasındaki ortalama zaman süresidir. Bir molekül yalnız belli bir yönde hareket etmez. Hareket yönünü, çarpmalar sonucu sürekli olarak değiştirir. Korelasyon zamanı bir molekül için sınırlı değildir. Bu zamanın maksimum ve minimum değerleri vardır. Belli şartlarda ortalama bir değerden bahsetmek mümkündür. Rotasyon hareketlerinde ise bir radyan rotasyon için gerekli ortalama zamana korelasyon zamanı denir. Korelasyon zamanları; sıcaklık, molekülün büyüklüğü, molekülün şekli ve çözeltinin viskozitesi gibi faktörlere bağlıdır. Korelasyon zamanı 10^{-10} sn olan bir rotasyon hareketinin frekansı yaklaşık olarak 10^{10} Hz'dir. Bu rotasyon hareketlerinden bazılarının frekansı, çekirdeğin larmor frekansı ile aynı bölgede olacağından, çekirdek bu manyetik alanlarla etkileşerek fazla enerjisini bu sistemlere (örgü) verir.

Bir sistemde spin-örgü durulmasına katkısı olan çeşitli mekanizmalar vardır. Bunlar,

- a) Dipolar Durulma
- b) Spin-Rotasyon Durulma
- c) Paramanyetik Durulma
- d) Kuvadropolar Durulma

gibi bilinen en önemli durulma mekanizmalarıdır. Bunların tümünün kombinasyonu ile spin-örgü durulması meydana gelmektedir.

a) Dipolar Durulma: Eğer uyarılmış bir çekirdek, manyetik momente sahip başka bir çekirdeğe doğrudan bağlı ise, bu çekirdeğin çok etkin bir şekilde durulma

olasılığı ortaya çıkar. Bir protonun doğrudan bağlı olduğu ^{13}C çekirdeğini göz önüne alalım. ^{13}C ve ^1H çekirdeklerini atom merkezlerinde lokalize olmuş iki dipol olarak düşünebiliriz. Protonun çevresinde bulunan manyetik alan ^{13}C çekirdeği üzerine az da olsa bir etki yapacaktır. Protonun manyetik momentinin (μ_{H}) ^{13}C çekirdeğine olan etkisi, ^{13}C - ^1H bağının, spektrometrenin dış manyetik alanı ile yapmış olduğu açıya bağlı olur. Proton tarafından ^{13}C çekirdeği etrafında oluşturulan manyetik alan H_{DD}

$$H_{\text{DD}} = \mu_{\text{H}} \frac{(3 \cos)^2 (\phi - 1)}{\gamma^3} \quad (2.35)$$

formülü ile elde edilir.

Çözelti içerisinde moleküller, çeşitli yönlerde hareket ettiğinden, ϕ açısı değişecek, dolayısıyla manyetik alan H_{DD} de sürekli olarak değişir. Manyetik alan H_{DD} 'nin sürekli salınımı durulma için gerekli bir olaydır. Proton ile doğrudan bağlı olan karbon atomlarının durulmasında rol oynayan en etkili ve çoğu kez de en önemli mekanizma dipolar mekanizmadır. Bu mekanizmanın durulmaya olan katkısının artan sıcaklık ile azaldığı tespit edildi.

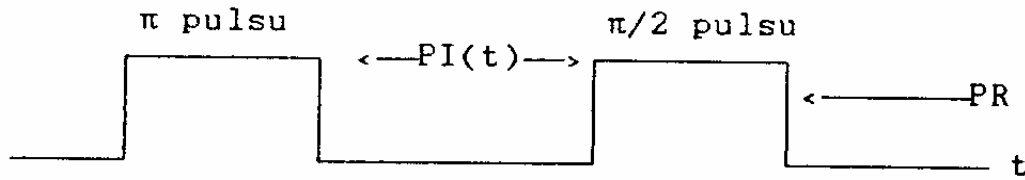
b) Spin-Rotasyon Durulması: Bir molekül içerisinde küçük atom veya atom gruplarının rotasyon hareketleri sonucunda oluşturdukları değişken manyetik alanların etkisinden kaynaklanmaktadır. Genelde spin-rotasyon olayı, dipolar durulmayı engeller ve durulma zamanlarını artırır.

c) Paramanyetik Durulma: Dipolar durulma mekanizmasının diğer bir örneği çiftleşmemiş elektronlar tarafından oluşturulur. Elektronun manyetik momenti, protonun manyetik momentinin yaklaşık olarak 1000 katı kadardır. Bu nedenle çözücü içerisinde bulunan çözünmüş oksijen (oksijen paramanyetik özelliğe sahiptir.) veya paramanyetik safsızlıklar durulmayı hızlandırır. Bunun sonucu olarak da piklerde önemli derecede genişlemeler gözlenir ve piklerde ince yapı kaybolur. Böyle bir durumda spektrum yorumu kolay yapılamaz.

d) Kuvadropolar Durulma: Bu durulma genel olarak spin kuantum sayısı $I > 1/2$ olan çekirdekte gözlenir. Bu atomlar üzerinde elektron yoğunluğu simetrik bir şekilde dağılmamıştır. Asimetrik yük dağılımı elektrik alan gradyenti oluşturur ki bu da durulma zamanlarını etkiler.

2.10. İversion Recovery yöntemi

Bir 90° pulsunu izleyen FID serbest presesyon bozunum sinyali $180^\circ - \tau - 90^\circ$ puls adımları kullanılmak suretiyle elde edilir. Böyle bir adım şekil 2.13 de görülmektedir.



Şekil 2.13. İversion Recovery puls adımının gösterimi.

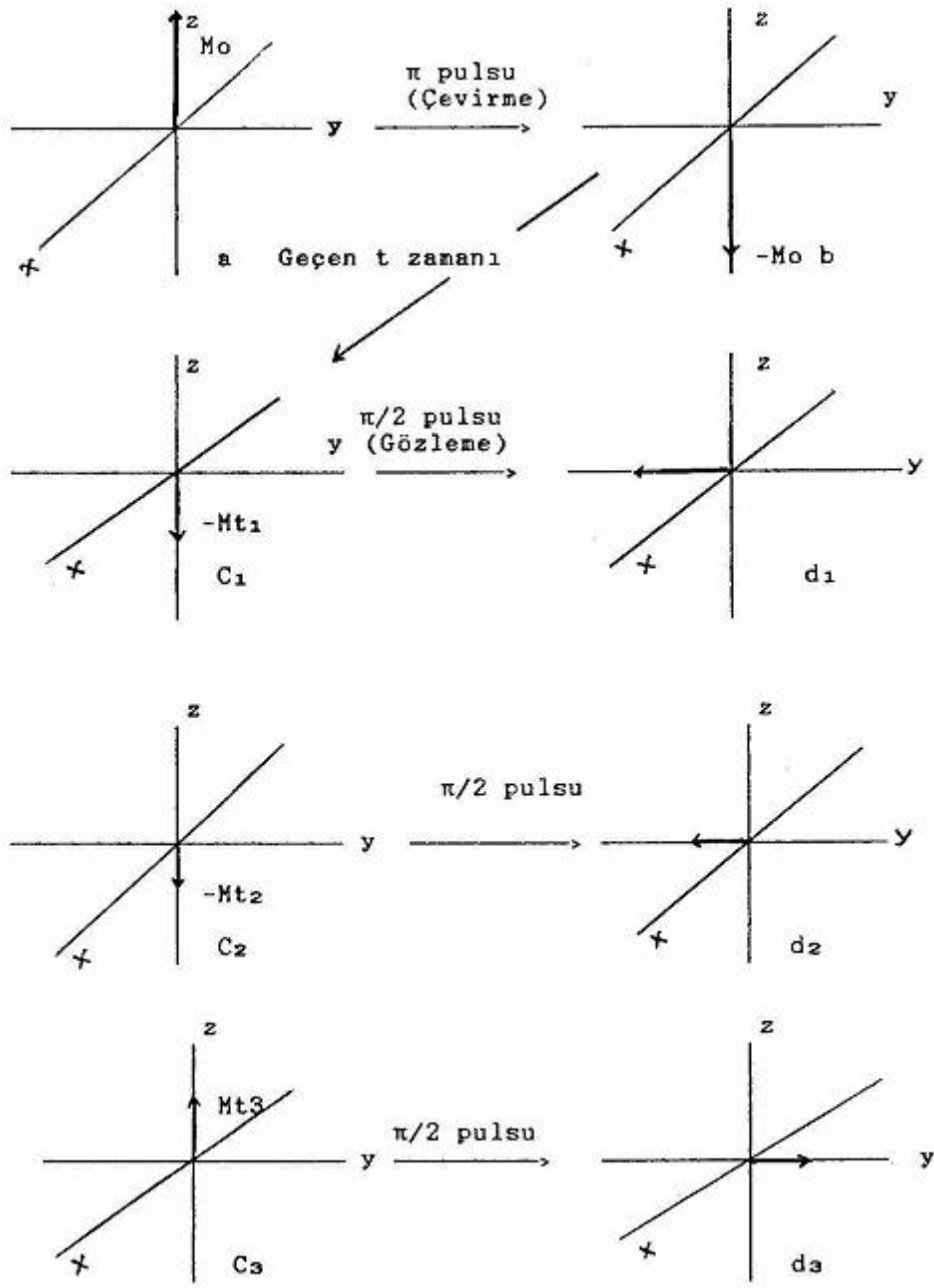
İversion Recovery metodu kullanıldığı zaman elde edilen magnetizasyon vektörlerinin zaman gelişimi ise şekil 3-12 de çizilmiştir. Buradaki adımlar şöyle açıklanabilir: π pulsusu termal dengedeki M_0 magnetizasyonuna eklenerek M_0 180° döndürülür ve $-M_0$ (b)'ye dönüştürülür. Bunu takiben M_0 (b), (a)'daki denge koşullarına döner. τ_1 kadar bir zaman (puls aralığı) geçtikten sonra, magnetizasyon vektörü $C_1(M\tau_1)$ olur. Bu anda 90° pulsusu uygulanmak suretiyle magnetizasyon x-y düzlemine döndürülür ve d_1 sinyali olarak gözlenir. Aynı işlem $t_1 < t_2 < t_3 < 5t_1$ koşullarına uyan çeşitli t 'ler için tekrarlanırsa C_1, C_2, C_3 magnetizasyon vektörleri veya d_1, d_2, d_3 sinyalleri gözlenir. Sinyaller t zaman aralığı cinsinden çizilirse şekil 2.13 elde edilir. Magnetizasyon vektörü,

$$M(t) = M_0 \{1 - 2\exp(-t/T_1)\} \quad (2.36)$$

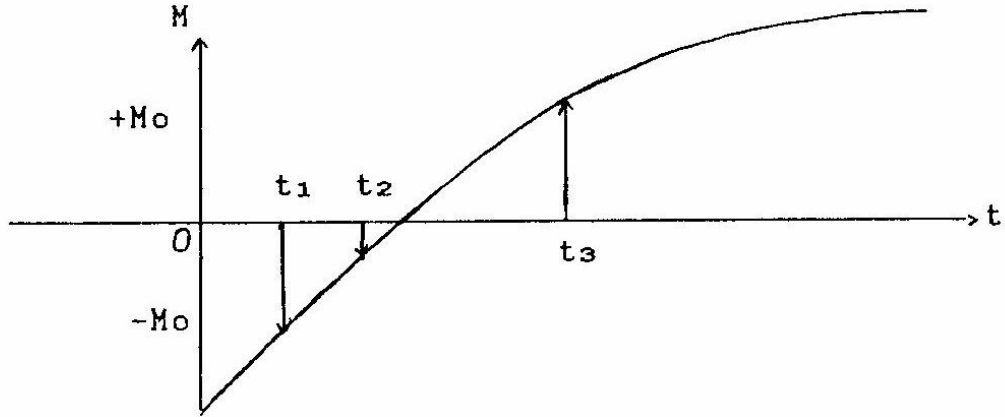
denklemine göre değişmektedir. Bu değişim denklemini 180° pulsu uygulayarak z-yönündeki magnetizasyonun -z'ye döndürülmüş bulunan magnetizasyonun denge durumuna geri gelmesi süreci,

$$\frac{dM_z}{dt} = \frac{M_z - M_0}{T_1} \quad (2.37)$$

diferansiyel denkleminin çözümü ile bulunur.

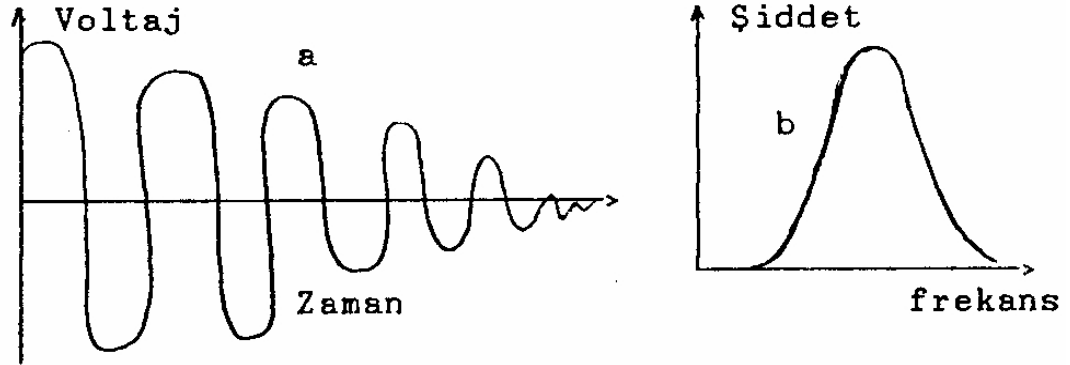


Şekil 2.14. Inversion Recovery metoduna göre magnetizasyon vektörü M'nin davranışı.



Şekil 2.15. Gözlenen Inversion Recovery adımlarının zamana bağlılık eğrisi.

Magnetizasyon vektörleri 2π pulsu yardımı ile x-y düzlemine döndürüldüğünde öncelikle FID sinyali gözlenir. Bu FID sinyali şekil 2.16a' de görüldüğü gibi zamanla serbestçe bozunur ve sinyal frekans ölçeğinde gözlenir.



Şekil 2.16.(a) NMR sinyalinin serbestçe bozunması. (b) Bir NMR spektrumu.

Bir pulse adımı uygulandıktan sonra ikinci bir adımı uygulamadan önce sistemin tekrar termal dengeye gelmesi için yeteri kadar beklemek gerekir. Bu süre sistemi T_1 spin-örgü durulma zamanı ile yakından ilişkilidir. (2.36) denkleminde her iki tarafın logaritması alınırsa elde edilen ifade t'nin çizgisel bir fonksiyonu olup, bu doğrunun eğiminden T_1 spin-örgü durulma zamanının hesaplanabilmesi mümkündür. "Özel Auto Stacking" bilgisayar programı vasıtası ile veriler uygun seçilmişse bu doğru otomatik olarak osiloskop ekranında en küçük kareler yöntemine göre çizilmekte ve doğrunun

eğiminden hesaplanan T_1 spin-örgü durulma zamanı saniye cinsinden otomatik olarak ekranın köşesinden okunmaktadır. Ayrıca spektrumda birden fazla pik varsa her pike ait durulma zamanlarını ayrı ayrı okumak mümkündür.

2.11. Spin Spin (T_2) Durulma Zamanlarının Ölçümleri

T_2 ölçümleri de 400 MHz de çalışan Avance FT-NMR spektrometresi kullanılarak yapıldı. T_2 ölçümleri yapılırken CPMG tekniği kullanıldı. τ gecikme değerleri T_2 için 100 ms ile 3000 ms arasında değiştirildi. T_1 de olduğu gibi T_2 'de de her bir T sıcaklığında ölçümler yapılırken 15 dakika beklendi. Her bir sıcaklık ölçümü 1,5 - 2 saat sürdü. Her sıcaklığa ait magnetizasyon bozunumunun üstel olduğu gözlemlendi.

2.12. Aktivasyon Enerjisi (E_a) ve İlgili Zamanları (τ_o, τ_c) nın Hesaplanması İçin Durulma Oranlarının Düzenlenmesi

Hesaplamalarda, benzer spinlerin dipolar etkileşmesi için Solomon-Bloembergen tarafından türetilen 2.25 denklemi kullanıldı.

$$\frac{1}{T_1} = \frac{3}{10} \frac{\gamma^4 \hbar^2}{r^6} \left[\frac{\tau_c}{1 + \omega^2 \tau_c^2} + \frac{4\tau_c}{1 + 4\omega^2 \tau_c^2} \right] \quad (2.38)$$

$$\frac{1}{T_2} = \frac{3}{20} \frac{\gamma^4 \hbar^2}{r^6} \left[3\tau_c + \frac{5\tau_c}{1 + \omega^2 \tau_c^2} + \frac{2\tau_c}{1 + 4\omega^2 \tau_c^2} \right] \quad (2.39)$$

Burada,

γ = protonun jromagnetik oran sabiti $2,6743 \times 10^4 \text{ s}^{-1} \text{ T}^{-1}$

r = proton-proton çekirdekler arası uzaklık $1,79 \times 10^{-8} \text{ cm}$

ω = Larmor açısal frekansı

τ_c = ilgi zaman

$$\tau_c = \tau_o \exp(E_A / RT) \quad (2.40)$$

denklemleri ile verilir. Burada,

E_a = moleküler hareketler için aktivasyon enerjisi

R = gaz sabiti 8,314 J/mol.K

T = sıcaklık 298 K

$\omega^2 \tau_c^2 \ll 1$ olduğu aşırı daralma durumunda, Denk.2.38 aşağıdaki gibi düzenlenir.

$$\frac{1}{T_1} = A \exp(E_a / RT) \quad (2.41)$$

$$T_1 = \frac{1}{A} e^{-E_a / RT} \quad \text{ise}$$

veya

$$\ln T_1 = \ln \frac{1}{A} - \frac{E_a}{R} \left(\frac{1}{T} \right) \quad (2.42)$$

grafik eğiminden $(y = a \times + b)$ $b = \ln \frac{1}{A}$ dir ve buradan da τ_0 ' ı bularak denk.2.40

tan yararlanıp τ_c ' yi buluruz. Burada,

$$A = \frac{15}{10} \frac{\gamma^4 \hbar^2}{r^6} \tau_0 \quad \text{dır.}$$

Bu durumda, $\ln T_1$, $1/T$ ' ye göre doğrusal olarak azalır.

2.13. Taç Eterler

Heteroatom olarak sadece oksijen içeren makrosiklik eterlere taç eter, hem oksijen hem azot içeren makrosiklik eterlere aza-taç eter adı verilir. Bu moleküller IA ve IIA grubu katyonlarıyla kararlı ve kristal yapıda kompleksler oluştururlar (Pedersen

1967, 1970). Çözeltide ise bu katyonları seçimli olarak bağlarlar (Tusukube ve ark. 1996). Alkil amonyum tuzları ve nötral organik moleküller ile konut (host)-konuk (guest) türünde seçimli kompleksler oluştururlar (Cram ve ark. 1974, Johnson ve ark. 1985, Cram ve ark. 1988, Weber 1998). Bu özelliklerden yararlanarak optikçe aktiflik gösteren aminoasitler ve başka organik moleküller izomerlerinden kolon kromatografisi ile ayrılabilir. Ayrıca optikçe aktif taç eterler, kompleks oluşum yolu ile α -aminoasitlerin (+) ve (-) formlarını ayırabilir (Cram ve ark. 1978). Bu amaçla silikaya bağlanmış taç eter dolgu maddeleri hazırlanmış ve kromatografik ayırma işlemlerinde olumlu sonuçlar alınmıştır.

Taç eterler reaksiyon hızını ve verimini artırdıklarından dolayı, faz transfer reaksiyonlarında katalizör olarak kullanılmaktadır (Guida ve Mathre 1980, Bartsch ve Yand 1984). İyon seçici elektrot yapımında ve hücrelerde Na^+/K^+ seçiciliğinin düzenlenmesinde önemli bileşiklerdir (Katayama ve ark. 1985). Aza-taç eterler birbirlerine bağlanarak poli-aza-taç eterleri oluştururlar (Gokel ve ark. 1995). Bis-imino taç eterlerin en önemli özelliği, çapı taç eter halkasının boşluğundan daha büyük olan alkali ve toprak alkali katyonlarını iki taç eter halkası arasında sandviç tipi kompleks vererek koordine etmesidir. Bu tür kompleksler, tek halkalı taç eter komplekslerinden daha kararlıdır (Bourigon ve ark. 1975, Handyside ve ark. 1982, Beer 1986). Çapı taç eter halka boşluğundan daha küçük olan katyonlar, taç eter halkasına kolay yerleşebildiğinden, bis-imino taç eter ligandları bu tür katyonlarla iki aktif bölgeye sahip ditopik kompleksler oluştururlar.

Aza-taç eter bileşiklerindeki azot atom ve/veya atomlarına ya da karbon atom ve /veya atomlarına fonksiyonel grupları bağlı olduğu kollu tek halkalı eter bileşiklerine lariat eterler denir (Gokel 1991). Lariat eterler Pb(II) , Zn(II) ve Cd(II) iyonlarına karşı seçicidirler ve tıpta görüntüleme maddeleri olarak kullanılırlar (Hancock ve ark. 1988, Hancock ve ark. 1996). Aza-taç eter halkasına bağlanan fonksiyonlu gruplar değişikçe oluşan lariat eterler farklı özellik gösterir. Ferrosen içeren lariat eterlerin, redoks aktif iyon yakalayıcı (iyonofor) olduğu bilinmektedir (Beer ve ark. 1994).

Taç eterler ile karbon elektrotların modifiye edilerek, bu elektrotta voltametrik metotlarla kurşun tayini yapıldığı ve bu metodun ticari numunelere başarıyla uygulandığı bilinmektedir. (Ijeri ve Srivastava 2001).

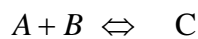
Bunların yanı sıra son yıllarda taç eterlerin kanser hücrelerinde kullanıldığına dair yayınlara rastlanılmaktadır (Ihara ve ark. 1997; McPhee ve ark. 2000). Fosfazen bileşikleri endüstriyel ve tıbbi alanlarda önemli bir yer tutarlar. Bazı aminofosfazelerin antikarsinojen (Laberre ve ark. 1979) ve antibakterial özelliklerine sahip olduğu ve HIV virüsüne karşı aktiflik gösterdiği (Brandt ve ark. 2001) ve bu bileşiklerin düşük toksiditeye sahip olmalarından dolayı kemoterapik uygulamalarda avantajlar sağladığı (Beak ve ark. 2000) belirlenmiştir. Tümör önleyici etkisi nedeniyle halkalı etilendiamin bileşiği olan aziridin ve piroolidin sübstitüentleri içeren siklofosfazen türevleri özellikle önem kazanmaktadır. Bu bileşiklerin, diğer aziridinil içeren hücresele aktif bileşikler gibi dezavantajları vardır (Brandt ve ark. 2001). Son yıllarda makrohalkalı siklofosfazelerin stereojenik ve anizokronik özellikleri incelenmektedir (Bilge ve ark. 2004a; Bilge ve ark. 2004b; Bilge ve ark. 2006; Porwolik- Czomperlik ve ark. 2002).

2.14. Moleküler Tanımının Nicel Tayin Yöntemleri

Yeni kiral makrosikliklerin moleküler tanıma yeteneğini ölçmede, İnfrared (IR) spektroskopisi, FAB-MS, floresans spektroskopisi, ultraviolet-visible (UV-Görünür), moleküler modelleme ve NMR titrasyon gibi çeşitli spektroskopik metotlar kullanışlı araçlardır. Moleküler tanımının derecesi, bu metotlarla nicel olarak ölçülebilir.

2.14.1. Bağlanma Sabiti K_a 'nın MNR Verilerinden Hesaplanması Fielding (2000)

Moleküler tanıma, modern organik kimyanın önemli bir konusudur. Bu alandaki yayınların sonuçlarından bağlanma sabiti K_a 'nın önemine bakarsak, genellikle K_a 'nın ölçümü temel şarttır. Bu bölümde, konukçu-konuk kimyasındaki K_a 'nın ölçümünde en çok kullanılan tekniklerden biri olan NMR spektroskopisinin ardındaki metodoloji tartışılacaktır



şeklindeki basit bir reaksiyon için denge sabitinin hesaplanabilmesi A, B ve C türlerinin denge derişimlerinin (doğrusu termodinamik aktivite) bilinmesini gerektirir (Connors 1987). Tepkimede verilen A ve B, konukçu (H) ve konuk (G) kompleks oluşturan

türleri, birbirlerini hidrojen bağı veya Van der Waals kuvvetleri gibi zayıf moleküller arası etkileşimlerle bir arada tutan bir kompleks oluştururlar. Bu durumda denge sabiti, genellikle bağlanma sabiti veya birleşme sabiti olarak adlandırılırken; C türü, ürünün kimyasal özelliklerinin serbest moleküllerinkine çok benzediğini ifade edecek şekilde H•G olarak yazılabilir.

$$K_a = \frac{[H \cdot G]}{[H] \cdot [G]} \quad (2.43)$$

Eşitlik (2.43)' da sunulan karışımın NMR spektrumunun görünümü K_a reaksiyon hızına bağlı olacaktır. Bu bölüm NMR zaman ölçeğindeki ve konuk spektrumunun sadece anlık bir ortalama hızındaki konukçu-konuk kompleksinin gözlenen reaksiyon hızı ile ilgilidir. Burada gözlenen tür konukçu olsaydı; formüldeki konuk yerine, konukçu yazılırdı. Bu durumda gözlenen her kimyasal kayma, serbest ve kompleksleşmiş moleküllerde gözlenen kaymaların mol kesirlerinin ağırlıklı ortalamasıdır.

$$\delta_{göz} = X_G \delta_G + X_{HG} \delta_{HG} \quad (2.44)$$

ve 1:1 kompleks oluşumu için

$$[G] + [HG] = [G]_0 \quad (2.45)$$

$$[H] + [HG] = [H]_0 \quad (2.46)$$

(2.45)-(2.46) eşitlikleri tanımlanmış parametreler (G ve H türlerinin gerçek veya başlangıç derişimleri); deney gözlemleri ($\delta_{göz}$ ve δ_G) ve hesaplanarak parametre (K_a) arasındaki ilişkiyi tanımlar. $\delta_{göz}$ ve K_a arasındaki ilişkinin doğrusal olmadığına dikkat edilirse, bir başka parametre (δ_{HG}) genellikle doğrudan hesaplanamaz. Aynı zamanda H ve G türlerinin denge derişimleri (çözeltideki gerçek derişim) başlangıç veya make-

up işlemi sonucu oluşan derişimlerle aynı değildir. Bilinmeyen parametrelerin (K_a ve δ_{GH}) hesaplanması için, $[G]_0$ ve $[H]_0$ 'ın bir dizi farklı derişimlerinin ölçümüyle ve sonra verilerin islenip; ardından bazı doğrusallaştırma yöntemleriyle, ya da doğrusal olmayan eğri uyumlandırma işlemleriyle başarılır.

Bu yöntem, 1960'ların baslarında hidrojen bağı ve yük transfer komplekslerinin denge sabitlerinin çalışılmasında başarıyla uygulandı. Geliştirilen bu tekniklerle (fast exchange: hızlı değiş-tokuş) 1:1 ikili kompleksleri için bağlanma denklemi çözüldü. Daha sonraki çalışmalar, denklemleri üçlü sistemler için bilgisayar temelli uyumlandırma metotlarına genellemiştir. Moleküler tanıma (Lehn 1995, Walliman ve ark. 1997) ve konukçu-konuk kimyasındaki (Schneider 1998) çalışmalardan, özellikle küçük konukların siklodekstrinler (Connors 1997, Schneider 1998) crown eterler, kaliksarenler (Böhmer 1995) ve kriptofanlarla (Collet 1987) oluşturdukları nötral komplekslere (Izatt ve ark. 1992, Webb ve Wilcox 1993) ait literatürlerden elde edilen yakın örnekler burada özetlenmiştir.

NMR, supramoleküler kimyada konukçu-konuk etkileşimlerinin ölçümünde kullanışlı bir araç haline gelmiştir. Moleküller arası birleşmenin nitel olarak ölçümünde NMR titrasyon yönteminin kullanıldığı yüzlerce çalışma vardır. Foster ve Fyfe (1969) 1964'e kadar olan literatürleri (linear yöntemler) ayrıntılı olarak derlemiştir. O zamandan bu yana Connors (1987), Bradshaw ve araştırma grubu (1994), Tsukube ve araştırma grubunun (1996) derlemeleri NMR metodolojisinin değişik uygulamalarına ait örnekler içermektedir. Bunlar arasında Connors'ın kitabının besinci bölümünün ve Tsukube ve araştırma grubunun derlemesinin okunulması özellikle önerilir. Bu bölümde verilen derlenmiş literatür bilgileri, bu alanda çalışacak araştırmacılar için izlenecek deneysel prosedürlere ilişkin temel bilgi sunmaktadır.

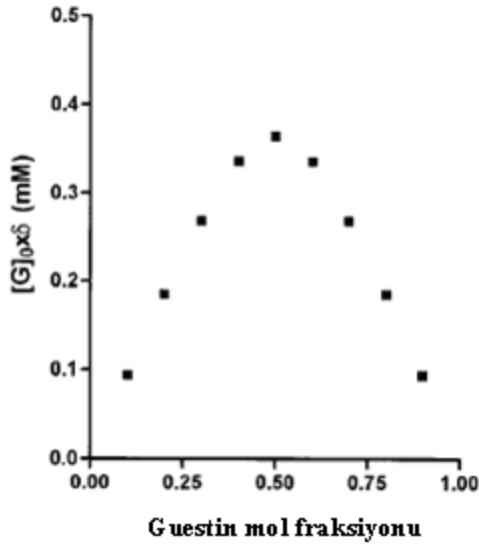
2.14.1.1. Stokiyometrenin Hesaplanması

K_a 'nın belirlenmesinden önce, konukçu-konuk kompleksinin stokiyometrisinin belirlenmesi her zaman gereklidir (Connors 1987, Tsukube ve ark 1996). Bu, sürekli değişim metodu vasıtasıyla NMR verilerinden kolayca elde edilir (Job's yöntemi) (Job 1928, Gil ve Oliveira 1990).

Sürekli değişim yöntemi, konukçu-konuğun çeşitli oranlarını içeren bir seri çözeltinin hazırlanmasını gerektirir. Bu sebeple mol oranları aralığı

$0 < [H]_0 / ([H]_0 + [G]_0) < 1$ olacak şekilde bir seri örnek hazırlanır. Her bir örneğin $[H]_0 + [G]_0$ toplam konsantrasyonu sabittir. Deneysel olarak gözlenen parametre, konukçu veya konuğun kompleks oluşumuna duyarlı olan kimyasal kaymasıdır. Veriler X_G 'ye karşı $X_G \Delta\delta$ biçiminde grafikleştirilmiştir (Şekil 2-6). Mol oran metodu olarak bilinen bir diğer teknik, eğer $K_a > 10^5$ ise iyi çalışır. Bu metotta sabit $[G]_0$ ve uygun oranda $[H]_0$ içeren bir seri çözeltilerden elde edilen $[H]_0$ 'a karşı $\Delta\delta$ 'in grafiği, kompleksin stokiometrisine uygun $[H]/[G]$ oranda kesişen iki düz çizgi oluşturur.

Stokiometriyi belirlemek için elde edilen verilerin, bağlanma sabitinin belirlenmesi için en iyi veriler olmadığına dikkat edilmeli; bu yüzden farklı deneyler planlanmalı ve yapılmalıdır.



Şekil 2.17. Guestin mol fonksiyonu

Şekil 2.17 Stokiometrinin belirlenmesi için Job Plots örneği. $K_a = 10000 \text{ M}^{-1}$, $\Delta\delta_{\text{max}} = 0.50 \text{ ppm}$ ve $\delta_G = 0.0 \text{ ppm}$ olduğu ve 1:1 kompleks oluşumunda şekil 2-6'daki grafik elde edilmektedir. $[G]_0 + [H]_0 = 2 \text{ mM}$, ve $[G]_0$, 0.2mM artışlarla 0.2 mM'dan 1.8 mM'a değiştirildiği koşullar altında ve konukçu/konuk oranının aralığı gerçek deney koşullarına göre yenilenir. Maksimumun yeri kompleksin stokiometrisini belirtmektedir.

2.14.1.2 Grafiksel Metotlar

Grafiksel (ya da doğrusal) metotlar, δ_{obs} ve K_a arasında doğrusal bir ilişki üretmek üzerine tasarlanırlar. Öyle ki NMR verileri grafiksel olarak ele alınabilsin. 1:1 bağlanma izotermi tanımlayan eşitlikler, onların dik açılı hiperbolleridir. Bunların çözümleri için farklı grafiksel yöntemler vardır (Connors 1987).

2.14.1.2.1 Benesi-Hildebrand (Hana-Ashbaugh) İşlemi

Yaygın yaklaşım, genellikle (ve biraz üstünkörü) Benesi-Hildebrand işlemi olarak adlandırılır. Orijinal gerçek Benesi-Hildebrand işlemi, iyodun aromatik hidrokarbonlarla yük transfer kompleksinin spektroskopik ölçümünde kullanılmıştır (Benesi ve Hildebrand 1949). Bu metodun temel özelliği, H bileşeninin aşırısı ile çalışarak, kompleksleşmemiş H'nin başlangıç derişimine eşit değerde $[H]=[H]_0$ tutulmasıdır. Bilinen miktarlar (ilk derişimler) ve deneysel gözlemler arasındaki ilişki, bu koşulda türetilebilir.

Mathur ve çalışma grubu (1963) ve Hannah ve Ashbaugh (1964), Benesi-Hildebrand eşitliğinin NMR versiyonunu birbirlerinden bağımsız türetmişlerdir.

$$1/\Delta\delta = 1/(K_{ass} \Delta\delta_{max} [H]_0) + 1/\Delta\delta_{max} \quad (2.47)$$

burada $\Delta\delta = (\delta_G - \delta_{göz})$ ve $\Delta\delta_{max} = (\delta_G - \delta_{göz})$.

$1/[H]_0$ 'a karşı $1/\Delta\delta$ grafiği (genelde çift evrik grafik olarak bilinir), $1/K_a \Delta\delta_{max}$ eğimiyle ve $1/\Delta\delta_{max}$ kaymasıyla doğrusal olmalıdır. Eşitlik 2-61'in ilave sınırlaması, H'nin yüksek derişiminde ekstrapolasyon yapılmasıdır. K_a 'nın küçük olduğu sistemlerde bu metot $\Delta\delta_{max}$ 'ta büyük hatalara ve sonuç olarak K_a 'nın yanlış değerlerine yol açabilir. Güncel yayınlarda çift evrik grafik terimi, Benesi-Hildebrand yaklaşımı ve Hannah ve Ashbaugh yaklaşımı, bu veri işleme yönteminde birbirinin yerine kullanılmaktadır.

2.14.1.3. Deneysel Hatalar, Güvenilirlik ve Sınırlamalar

K_a 'nın NMR'a bağılı olarak belirlenmesi, genellikle 10^{-10} M^{-1} aralığındaki bağlanma sabitleri için güvenilirdir. Elbette bu ifade geniş bir genellemedir ve biraz açıklama gerektirir. Bir K_a ölçümünden elde edilen deneysel veriler, derişimler, kimyasal kaymalar ve durulma zamanlarıdır (ya da NMR'da gözlenebilen bir diğere özellik). Bu değerin kesin ve hassas olarak ölçülmesi gerekir. Ancak elde edilen verilerin doğruluğunu ne belirler? Anahtar faktör bağlanma izotermindeki $\Delta\delta$ 'da K_a ve $\Delta\delta_{max}$ 'ın birleşik katkılarını ayırmaktır.

2.14.1.3.1. NMR Gözlemi

Konuğun serbest ve bağılı halleri arasındaki kimyasal kayma farkı, olabildiğince büyük olmalıdır. Bu her zaman daha büyük olanın daha iyi olması durumudur. Konukçu-konuk kompleksleşmesinde gözlenen 1H_1 için $\Delta\delta_{max}$, 0.5 ppm ya da daha büyük olabilir. İdeal durum, kompleksteki gözlenen protonun oldukça anizotropik gruba (karbonil ya da aromatik halka) yakın olduğu durumudur. Gözlenen maksimum kayma bu değerin yarısı kadar olabilir ve bazı raporlarda $\Delta\delta_{max}$ 0.1 ppm'e dayanmaktadır. 1H frekansı 400 MHz olan tipik bir spektrometrede pik genişliği 0.2 Hz olan keskin bir singletin kimyasal kayması ± 0.0005 ppm'lik bir doğrulukla ölçülebilir. Bu nedenle NMR sinyalinin frekansını ölçmek çoğu kez verinin en doğru ölçüm seklidir.

2.14.1.3.2. Çözelti Derişimleri

Kompleksi oluşturan türlerin derişimi kritik önemdedir ve ilk bakışta görüldüğü kadar basit değildir. Sorun, sadece çözeltilerin hazırlanma ve kullanılmaları sırasında dikkatli olmak değil; bağlanma eğrisini doğru bir şekilde temsil eden bir dizi çözelti bulmaktır. Bu konu üzerinde çok şey yazılmıştır. 1960'larda Weber (Weber ve ark. 1965, Weber 1965) Person (1965) ve Deranleau(1969), (Wilcox 1991) bağlanma ölçümleri teorisini anlatan bir dizi makale yayımladılar. Bu ilk makaleler, spektroskopik verilerin grafiksel işlemlerini anlatır, ancak sonuçlar geneldir. Wilcox bu konuları daha çok NMR eğri uyumlandırma bağlamında tartışmıştır (Wilcox 1991).

Başlıca Bulgular Şöyledir;

1. “Bağlanma olasılığı” (p), kompleksin derişiminin, kompleksin erişilebilecek en yüksek derişimine oranı olarak tanımlanır. Bu tanımlama hem güçlü hem de zayıf kompleksler için iyidir. Çünkü titrasyon eğrileri çoğu kez $[G_0] = [HG]$ olduğu noktadan geçer. Bu formülasyon, kompleksin erişilebilecek en yüksek derişiminin her zaman küçük oranlı bileşenin başlangıç derişimine eşit olduğu anlamına gelir. “Doyma fraksiyonu” da kompleksin gerçek derişiminin, kimyasal kayması ölçülen bileşenin başlangıç derişimine oranı olarak tanımlanır. Bu terim güçlü bağlanma durumunu ifade etme açısından daha az yararlıdır, çünkü bağlanma eğrisinin başlangıcında kompleksin derişimi eklenen konukçunun derişimi ile sınırlıdır.

2. K_a ölçümlerinde en az hata $p=0.5$ 'te meydana gelir ve “en iyi” veriler $0.2 \leq p \leq 0.8$ aralığında elde edilir. Başka bir deyişle K_a 'nın en doğru değerleri, kompleksin denge derişimi, en seyreltik bileşenin serbest derişimiyle yaklaşık olarak aynı olduğunda elde edilir.

3. Sistemde maksimum bilgi, p 'nin olası en geniş aralığında çalışarak elde edilir. Modelin eşitliği ile eşitliğe uyan veriler arasındaki uygunluğu göstermek (yani, bağlanma modelinin doğru stokiyometriye dayandığını kanıtlamak) için doyumluk eğrisinin en az %75'ine ulaşmak gereklidir. Başka bir deyişle herhangi bir bağlanma verisi, p 'nin uygun bir dar aralığı boyunca düz bir çizgiye uyacaktır. Deneysel veriler sınırlıysa, yüksek dereceli komplekslerin oluşmadığı kanıtlanmalıdır.

4. Bir kompleksin stokiyometrisini belirlemek için $p=1$ 'de (yani belirlenmeyen konukçu ya da konuk derişimlerinde) ölçüm almak gereklidir. Bu koşullar doğru bir K_a ölçümü için gereken koşullara zıt olduğundan, bu ise iki deney ayrılmalıdır.

5. Grafikselleştirme yönteminde Scatchard metodu, Benesi-Hildebrand ya da Scott yöntemlerine tercih edilir.

6. Weber ayrıca kompleksleşme sabiti K_a 'nın ölçülmesinde optimum basarı, (kompleksin stokiyometrisine bağlı olarak), konukçu ve konuk karışımının yaklaşık eşit mol oranıyla başlamak ve deneyin gözlenebilme limitine ulaşmaya kadar bu çözeltiyi birbirini ardından seyreltmek olduğunu önermiştir. Bu metod, verilerin bilgisayarlı analizine gayet uygun gözükmektedir. Ama yaygın kullanılmamaktadır.

Yukarıdaki konular, optimum deney koşulları sağlamada, dikkat edilmesi gereken hususları kapsar. Weber, Person ve Deranleau'nun düşüncelerinin daha ileri

götürülmesi (daha çok zayıf 1:1 kompleksleri için ve grafiksel veri islenmesi bağlamında) K_a belirlenmesinde deneysel koşulların optimize edilmesi için daha fazla tavsiye ile sonuçlanmıştır (Norheim 1969, Carta 1982, Granot 1983).

Değişik grafiksel veri işleyişleri arasında kantitatif karşılaştırmalar yapılmıştır. Tüm durumlarda, metodun sınırlılıkları (yani doygunluk fraksiyonunun uygun aralığı) göz önüne alındığında, sonuçların pek farklı olmadığı sonucuna varılmıştır (Wong 1976, Stamm ve ark. 1976, Takayama ve ark. 1979). Christian ve çalışma grubu (1974), birleşme sabitlerinden oluşturulan grafik metodunun, en küçük kareler yöntemiyle doğru olarak katkılanmış verilerden oluşturulan eğri uyumlama metodu ile gerçekten aynı değerleri verdiğini ispat ettiler. Bu sonuçlar deneysel olarak doğrulanmıştır (Dodziuk ve ark. 1999).

Hızlı değiş-tokuş koşullarından sapmadan dolayı, kararlılık sabitlerinde meydana gelen hatalar, Feeney ve araştırma grubu tarafından tartışılmıştır (Feeney ve ark. 1979). Bağlı ve serbest konuk arasındaki kimyasal değişim hızının, yaklaşık olarak bağlanma sabitiyle ilişkili olduğunu ve $K_a > 10^7$ için, birçok sistemin yavaş değişim içinde olması beklenir. Büyük bağlanma sabitlerinin, yavaş ligand değişimi ile; zayıfça bağlı komplekslerin ise hızlı değişimi ile ilişkili olduğu sezgisel olarak doğru gözükmektedir. Ancak bu genelleme her zaman doğru değildir. K_a 'ları $10-10^4 M^{-1}$ aralığında olup da kimyasal değiş tokuşun, NMR zaman ölçeğine göre yavaş kalan, konukçu- konuk kompleks örnekleri de vardır.

Kimyasal kayma ölçülürken, referans materyali de dikkate alınmalıdır (Li ve ark. 1993). Normalde araştırmacılar trimetilsilil türevi yada bir çözücü pikini referans alır. Referans materyalin kendisinin konukçu molekülüyle kompleksleşmediği kanıtlanmalıdır. Siklodekstrinlerle yapılan çalışmalarda tetrametil amonyum iyonu ve metanol memnun edici iç referanslardır (Matsui ve Tokunaga 1996).

Dikkate alınması gereken diğer deneysel özellikler, titrasyon sırasında (asit-baz kimyası ile bağlanma olayının birbirine karıştırma olasılığı) pH ve iyonik şiddetin kontrol edilmesidir. Çok bileşenli dengeye uyan (Dört parametre uyar) verilerin sonuçlarına biraz dikkatle bakılmalıdır.

(Reuben 1971) yaptığı çalışmada Gadolinium'un (Gd) bir paramagnetik probe olarak kullanılması ile biyolojik makro moleküllere metal iyonlarının bağlanmasını çalışarak, protonröleksasyon metotlarının bir araştırmasını yapmıştır. Makro molekül olarak **Bovine SerumAlbumin'i** (BSA) seçmiştir. Suyun proton röleksasyon oranının uzunluğunun paramagnetik Gd (III)-BSA çözeltisindeki iyon konsantrasyonuna bağlı olarak arttığını söylemiştir.

Ehancementı aşağıdaki şekilde tanımlayıp

$$\varepsilon^* = \frac{1/T_{1p}^*}{1/T_{1p}}$$

analitik bir parametre olarak kullanarak

$$\varepsilon^* = \frac{M_f}{M_l} \varepsilon_f + \frac{M_b}{M_l} \varepsilon_b$$

Bağıntısından ε_b 'yi tanımlayıp BSA'nın Gd(III) için dört tane bağlanma yeri olduğunu bulmuştur. Bağlanma sabitini 300K⁰'de $\approx 1,3.10^{-4}$ olarak ölçmüştür. Burada T1 protein varlığındaki ve T_{1p}^* yokluğundaki röleksasyon zamanlarıdır. M_f serbest metal konsantrasyonu M_b bağlı metal konsantrasyonu olup ε_b bağlı formdakilerin rotonröleksasyon oranı artışı, ε_f serbest formdakilerin proton röleksasyon oranı artışıdır. Ayrıca değişik frekans ve sıcaklık değerlerinde alınan ölçümlerden proton röleksasyon oranı artış mekanizmasını tartışmıştır. Cocodylate-Gd(III) çözeltisinde elektron-çekirdek dipolar etkileşiminin korelasyon zamanının Gd(III)-BSA çözeltisinde elektron spin röleksasyon zamanının değiştiğini gözlemiştir.

(Navon 1970) yaptığı çalışmada carboxypeptidase A ve pyruvate kinase içeren manganlı bir sulu çözeltide, proton röleksasyon zamanının frekansa bağlılığı ölçülmüş ve analiz edilmiştir.

Elektron spin röleksasyon zamanının uzunluğu frekansa bağlı bulunmuştur ve düşük frekanslardaproton röleksasyon zamanlarını kontrol ettiği belirlenmiştir. Proton röleksasyon oranı artış faktörü kullanılarak bağlı manganın koordinasyon küresindeki değişebilir su molekülleri sayısı, carboxypeptidase A için 1, pyruvate kinase için 2

olacağı bulunmuştur. Böylece paramagnetik metal iyonların enzimlerin aktif bağlanma yerlerinin incelenmesinde önemli olduğu vurgulanmıştır.

(Peacocke ve ark. 1969) E.coli ribozomal RNA ve Mn^{2+} iyonları içeren bir sulu çözeltide bir dizi magnetik alan ve sıcaklık değerlerinde, su protonlarının spin rölaksasyonunu içeren bir çalışma yapmışlardır. Proton rölaksasyon oranı artış teorisini kullanıp bağlanma sabitini ve bağlanma yeri sayısını hesaplamışlardır. Paramagnetik iyonların etkisi RNA varlığında arttırılmıştır. Sıcaklık düşürüldüğünde, büyüklüğü alana bağlı olan T_1 'in minimum bir değer aldığı gözlenmiştir. Bu, sulu çözeltinin hareketinden elektron spin rölaksasyonuna kadar dipolar rölaksasyon mekanizması içindeki bir değişime bağlanmıştır.

(Mildvan, ve Cohn, 1963) yaptıkları çalışmada, bağlı manganın, suprotonlarının nükleer magnetik rölaksasyon oranı ($1/T_1$) uzunluğuna etkisinin yeni bir fiziksel parametresini NMR pulsu ile ölçmüşlerdir. Bu parametrelerin değerleri, bağlı manganın proton rölaksasyon oranının aynı konsantrasyondaki serbest manganinkine oranı olan ϵ_b (enhancement) teriminde ifade edilmiştir. Böylece gözlenen proton rölaksasyon oranı artış değerleri, bağlanma yerlerinin sayısını tayin etmede ve bovine serum albümin'e Mn^{+2} 'nin bağlanma sabitini belirlemede kullanılmıştır. Ayrıca proteindeki yapısal değişimin sebebi ile ϵ_b 'de meydana gelen değişimi anlatmak için proton rölaksasyon oranı artış değerleri kullanılmıştır. Elektron Spin Rezonans kullanılarak serbest Mn^{+2} 'nin ölçümlerinden tayin edilen bağlanma yerleri sayıları ve bağlanma sabitleri, proton rölaksasyon oranı artış faktöründen tayin edilen bağlı Mn^{+2} değerleri ile iyi şekilde uyum içinde olduğu gözlenmiştir.

(Jones ve ark. 1974) yaptıkları çalışmada puls NMR tekniklerini kullanarak, serbest Gd(III) iyonları ve Lysozyme içeren Gd(III) çözeltilerinde bir dizi sıcaklık değerlerinde (0-40 °C) su proton rölaksasyon zamanlarını (T_1, T_2) ölçmüşlerdir. Ayrıca Lysozyme ve Gd(III) arasındaki dengeyi sıcaklığın bir fonksiyonu olarak çalışmışlardır. Surölaksasyon oranları, grafik ve hesaplama tekniklerinin bir kombinasyonu kullanılarak hem serbest hem de enzim bağlı metal bağlanma yerleri içinde belirlenmiş ve var olan teorilere hemen hemen uymuştur. Su koordinasyon küresi sayısı (q) ve dipolar rölaksasyon süreçleri için korelasyon zamanı (τ_c) elde edilmiştir ve bu süreçlerin τ_c 'ye katkıları sıcaklık ve frekansın bir fonksiyonu olarak analiz edilmiştir. Enzim kompleksinde τ_c için elde edilen sonuçlar daha önceki bazı

tahminlerden kayda değer bir şekilde farklı çıkmıştır. Sulu iyon çözeltisinde rölaksasyonun, rotasyonel korelasyon zamanı (τ_{1r}) tarafından kontrol edildiği belirtilmiştir. Fakat enzim-metal çözeltilerinde elektron spin rölaksasyon zamanının (τ_s düşük frekanslarda Diğere süreçlerden daha önemli olduğu vurgulanmıştır. Magnetik Rezonans teknikleri kullanılarak Lysozyme ve diğere makro moleküllerin yapılarını analiz etmek için elde edilen bu sonuçların uygulamaları çalışılmıştır.

Bu sonuçların bağlanma yerleri ile ilgili çalışmalarında proton rölaksasyon oranı artış faktörü kullanılmıştır. Aşağıdaki formüller kullanılıp

$$\varepsilon^* = \frac{1/T_{1p}^*}{1/T_{1p}}$$

$$K_D = \frac{[M].[E]}{[ME]}$$

proton rölaksasyon oranı artış faktörü ile ayrılma sabiti arasında

$$\frac{1}{\varepsilon - 1} = \frac{1}{[E]_f} \left(\frac{K_D}{\varepsilon_{\beta-1}} \right) + \frac{1}{\varepsilon_{\beta-1}}$$

ifadesi elde edilmiştir. Burada, E_f serbest enzim konsantrasyonu, M_f serbest metal konsantrasyonu, E_t toplam enzim konsantrasyonu, K_D ayrılma sabitidir.

(Sherry ve ark. 1973) yaptıkları çalışmada H_2O-D_2O (karışımında suprotonları rölaksasyon zamanının uzunluğunu belirlemek için direk bir metot kullanmışlardır. Safsuyun rölaksasyon zamanının (2.7 sn) %10 H_2O -% 90 D_2O çözeltisinde 9 sn ye arttığı gözlenmiştir. Bu daha uzun rölaksasyon zamanı, paramagnetik metal iyonlarının kaynaktan proton rölaksasyon oranı artış faktörünün belirlenmesi için kullanılmıştır. Manganyonunun Bovine Serum Albümin'e bağlanması

durumundaki parametreler, daha önce konuda geçen ve (mildvan ve ark. 1963) tarafından kullanılan yöntemlerle belirlenmiştir.

(Jenkins 1991) tarafından yapılan bu çalışmada proton rölaksasyon oranı artış faktörünün çözeltili protonlarına etkisini kullanılarak, potansiyel kan hücrelerinin ve hepatobiliary paramagnetik demir(III) kontrast ajanlarının, rac- ve meso-Fe(5-Br-EHPG) – (demir(III) N,N'-ethylenebis(5-bromo-2-hydroxyphenyl) glycinate) ve Fe(5-Br-HBED) – (demir(III) N,N'-bis-(5 bromo -2hydroxybenzyl) ethylenediaminediacetic acid), Human SerumAlbumin'e (HSA) bağlanması çalışılmıştır. Bu selatların HSA'ya değişik yerlerde, farklı değerlere sahip bağlanma sabitleriyle sıkıca bağlandığı gözlenmiştir. Su proton rölaksasyon oranları paramagnetik bileşenlerinin beklenen proton rölaksasyon oranı artışı, protein bağlı kontrast ajanların rotasyonel korelasyon zamanındaki artıştan meydana gelirken, HSA'dan dolayı su rölaksasyonunun diamagnetik bileşenleri içinde bağlanma sonuçları ilginç bir şekilde azalma içinde olduğu gözlenmiştir. Bu proton rölaksasyon oranı artışlarının selatların proteinlere nereden ve nasıl bağlandığına bağlı olarak değişebildiği gözlenmiştir. Sıcaklığın değişmesi, selatların yakınlığına bağlı olarak birinci ve ikinci türden bağlanma yerleri olduğu sonucunu vermiştir.

(Kang ve ark. 1984) Proton NMR görüntüleme için kontrast madde olarak kullanılan paramanyetik iyonların etkilerini değiştiren bazı faktörleri çalışmışlardır. İyon içeren sulu bir çözeltinin rölaksasyon oranının manyetik momentle güvenilir bir şekilde tahmin edilemeyeceği gösterilmiştir. Proton rölaksasyon oranı artış faktörü kullanılarak bağlanma yerleri sayısı ve bağlanma sabitleri hesaplanmıştır. İyonlar büyük moleküllerle kompleks halindeyken dominant korelasyon zamanı ile artan proton rölaksasyon oranı artış faktörünün güvenilir sonuçlar verebileceği gösterilmiştir. Proton rölaksasyon oranı artış faktörünün sırasıyla pH ve bağlanma rekabeti gibi bazı faktörlerle değişebileceği belirtilmiştir. Mangan için, metal bağlanma derecesini hesaplamakta hassas olan T_1 / T_2 oranının yararlı bir parametre olduğu gösterilmiştir. Paramagnetik rölaksasyon yükselmesinin biyolojik dokudaki özellikleri, kan içinde var olan maddeler ve mangan kullanılarak bir dizi deneyde gösterilmiştir(16).

(Gültekin ve ark 2004) Nükleer manyetizasyon ve genişleme oranlarının sıcaklığa bağımlılığı, sıcaklık miktarının NMR sinyalleri üzerine etkilerinin teorik ve deneysel olarak saptanması ile yeniden incelenmiştir. NMR şekillerinin sıcaklığa

bağımlılığını incelerken nükleer magnetizasyon dengesinin ve genişleme zamanlarının her birinin sıcaklık değişimlerinden nasıl etkilendiği dikkate alınmalıdır. Boltzman dağılımının her madde ve sıcaklıktaki etkisi sebebiyle, nükleer magnetizasyon dengesinin birleşik sıcaklığa bağımlılığı, sıcaklık (T), eko zamanı (T_g), tekrarlanma zamanı (T_R) ve durulma zamanları (T_1) T ve (T_2) T ye bağlı olarak negatif, pozitif veya zayıf olabilir. Sonuç olarak, NMR sinyali sıcaklığa bağlı bir katsayı üzerinden artabilir, azalabilir veya sabit kalabilir. Nükleer termal katsayıları, hazırlanmış spin eko reçeteleri ve çeşitli maddelerin deneysel verilerinin dizilimleri ile hazırlanmıştır.

3. MATERYAL VE METOT

3.1. Crown Eterlerin Tarihçesi

-OCH₂CH₂-gruplarının yinelenmesiyle oluşan büyük halka sistemlerine taç (crown) eterler denir. Crown eterler 1967 yılında Pedersen tarafından keşfedildi. Bu bileşikler organik çözücülerde inorganik tuzları çözmek için kullanılan önemli maddelerdir. Pirimer amonyum katyonları, toprak alkali ve alkali metallerle kararlı ve seçici kompleks oluşturan makrosiklik poli eterlerdir. Bu tür moleküllerin moleküler ve konformasyonel dinamikleri, katyonik ve moleküler tanımda, özellikle katyon etkileşimleri iç hareketleri etkilemekte hayati rol oynamaktadır. Bu nedenle bir host molekülünün bağlanma yüzeyindeki hareketine katyonun etkisi etkileşmeyi ölçmede bir araç olmaktadır. Bir çok farklı metot alkali ve toprak alkali katyonlarının makrosiklik iyonforlarla etkileşimlerini araştırmak için kullanılmıştır. Bu moleküler katyonun oksidasyon basamağına bağlı olmaksızın katyonlarla 1:1, 2:2, 2:1, 3:2 komplekslerini meydana getirdikleri Pedersen tarafından ortaya konulmuştur. Taç eterlerin kiral türevleri asimetrik yürüyen reaksiyonlarda katalizör ve kiral tanıma çalışmaları için bir model olarak kullanılmaktadır. Kiral taç eterlerin, amino asit ve türevlerinin optikçe ayrılması kadar, asimetrik sentezlerde kiral katalist olarak da büyük önemleri vardır. Bu tip kompleksler, metal iyonları ve amonyum tuzları ile sandviç tipi kompleks oluşturabilmekte ve amino asitlerin kiral tanınmalarında önemli yerleri vardır.

3.2. NMR Spektrometresi

NMR spektrometreleri temel olarak dört ana bölümden oluşur,

- 1) Kutup uçları arasında yüksek derecede homojen manyetik alan içeren mıknatıs
- 2) Çok kararlı bir radyo frekans vericisi
- 3) Radyo frekans alıcısı
- 4) Kaydedici (Monitor)

NMR spektrometresinde ışınlama kaynağı, radyo frekans vericisidir. NMR spektrometresini diğer spektrometrelerden ayıran en önemli kısım güçlü manyetik alanlarıdır. Manyetik alan şiddeti düşük olan cihazlar (1-2) permanent doğal mıknatıs veya elektromıknatıs içerirler. Özellikle elektromıknatıslar çok fazla elektrik

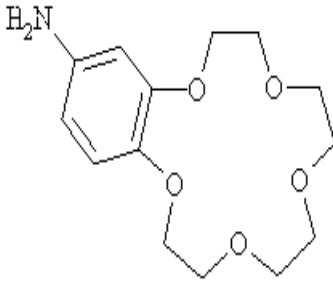
kullanmaları ve de sürekli olarak su ile soğutulmaları nedeniyle oldukça masraflıdırlar. Süper iletken mıknatıstan oluşan ve güçleri 20 Tesla'ya kadar çıkan cihazlar ise sürekli olarak sıvı helyum ve dıştan sıvı azot ile soğutulur. Cihaz kurulduktan sonra, kullanım ömrünü dolduruncaya kadar, sürekli olarak mıknatısın sıvı helyum sıcaklığında (4K) tutulması gerekir.

Ölçülecek olan numune bir tüp içerisine yerleştirildikten sonra, mıknatısın oluşturduğu manyetik alan içine getirilir ve manyetik alanda var olan inhomojenliğin elimine edilebilmesi için tüp, ölçüm esnasında sürekli olarak döndürülür. Ayrıca her ölçümden önce, shim bobinleri aracılığı ile manyetik alanın homojenliği kontrol edilir. Doğal ve elektromıknatıslarda alan sık sık değişirken, süperiletken mıknatıslarda, alan çok daha karardır.

3.3. Materyal

3.3.1 Taç Eterler

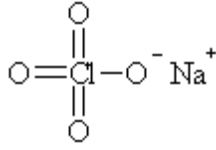
28,33 mg 4-Aminobenzo-15-Taç-5 ($C_{14}H_{21}NO_5$) Aceton- D_6 ile 10 ml'ye tamamlanarak stok çözelti hazırlandı ($C_{14}H_{12}NO_5$ Molekül ağırlığı;283,33 mol/g)



Şekil 3.1. 4-Aminobenzo-15-taç-5 molekül yapısı

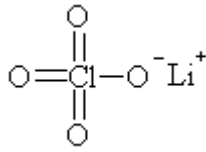
3.3.2. İyonlar

12,44 mg $NaClO_4$ (Sodyumperklorat) Aceton- D_6 ile 10 ml'ye tamamlanarak stok çözelti hazırlandı ($NaClO_4$ Molekül ağırlığı;122,44 mol/g).



Şekil 3.2. 1-Aza-15-Taç-5 Molekül yapısı

10,63 mg LiClO_4 (Lityumperklorat) Aceton- D_6 ile 10 ml' ye tamamlanarak stok çözelti hazırlandı (LiClO_4 Molekül ağırlığı; 106,39 mol/g).



Şekil 3.3 LiClO_4 Molekül yapısı

3.4. Metot

3.4. 1. Örneklerin Hazırlanması

Çizelge 3.1. Çalışmada kullanılan taç eter ve iyon konsantrasyonları

	Hos(μl)	Guest(μl)	Solve (μl)	$H_{\text{son}}(\text{M})$	$G_{\text{son}}(\text{M})$
1.Tüp	100	–	500	$1,7 \cdot 10^{-3}$	–
2.Tüp	100	50	450	$1,7 \cdot 10^{-3}$	$8,30 \cdot 10^{-4}$
3.Tüp	100	100	400	$1,7 \cdot 10^{-3}$	$1,66 \cdot 10^{-3}$
4.Tüp	100	150	350	$1,7 \cdot 10^{-3}$	$2,50 \cdot 10^{-3}$
5.Tüp	100	200	300	$1,7 \cdot 10^{-3}$	$3,30 \cdot 10^{-3}$
6.Tüp	100	250	250	$1,7 \cdot 10^{-3}$	$4,16 \cdot 10^{-3}$
7.Tüp	100	300	200	$1,7 \cdot 10^{-3}$	$5,00 \cdot 10^{-3}$

Kompleksleşme ölçümleri için her defasında çizelge 3.1' de belirtilen miktarlarda host (konukçu) ve guest (konuk) alınarak çözeltiler 5 mm'lik NMR tüplerine bırakıldı. Host olarak kullanılan taç eterlerin derişimi sabit tutularak guest olarak kullanılan iyonların derişimi değiştirilmiştir.

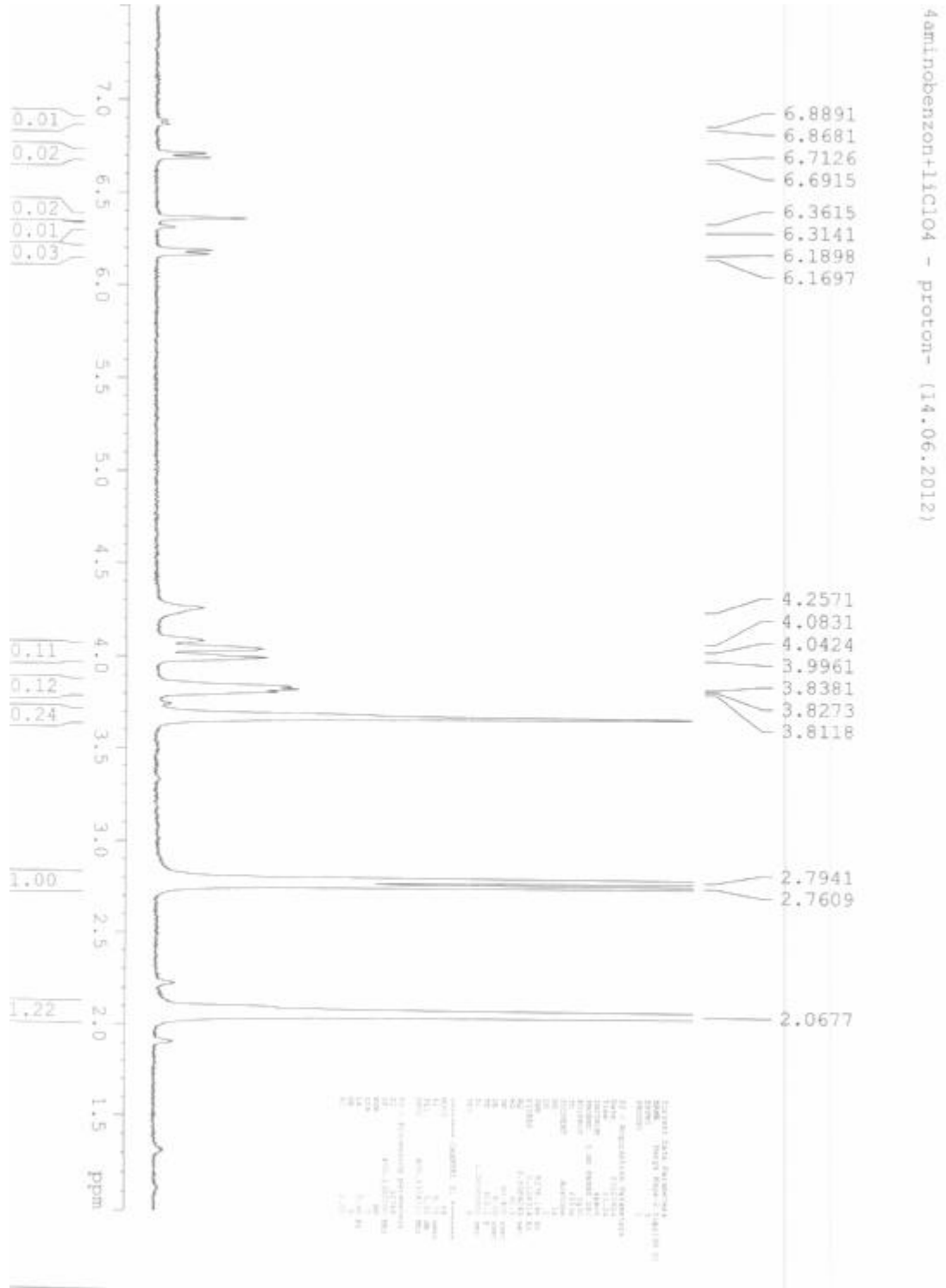
3.5 T₂ Spin-Spin Durulma Zamanlarının Ölçümleri

T₂ Spin-Spin durulma zamanları ölçümleri 400 MHz de çalışan BRUKER FT-NMR spektrometresi kullanılarak yapıldı. Ölçümlerde 5mm'lik NMR tüpleri kullanıldı. Spin-Spin Durulma Zamanlarının Ölçümleri (90 – τ – 180 – τ) puls adımları ve CPMG(Carr-Purcell_Meiboo-Gill) tekniği kullanılarak yapıldı. Her bir ölçüm için τ gecikme zamanları (delay times)100 ms ile 3000 ms arasında spektrumda gözlenen her bir pike uygun olacak şekilde seçildi. T₁ de olduğu gibi T₂ 'de de her bir T sıcaklığında ölçümler yapılırken 15 dakika beklendi. Her bir sıcaklık ölçümü 1,5 - 2 saat sürdü. Her sıcaklığa ait magnetizasyon bozunumunun üstel olduğu gözlemlendi.

4. ARAŞTIRMA BULGULARI

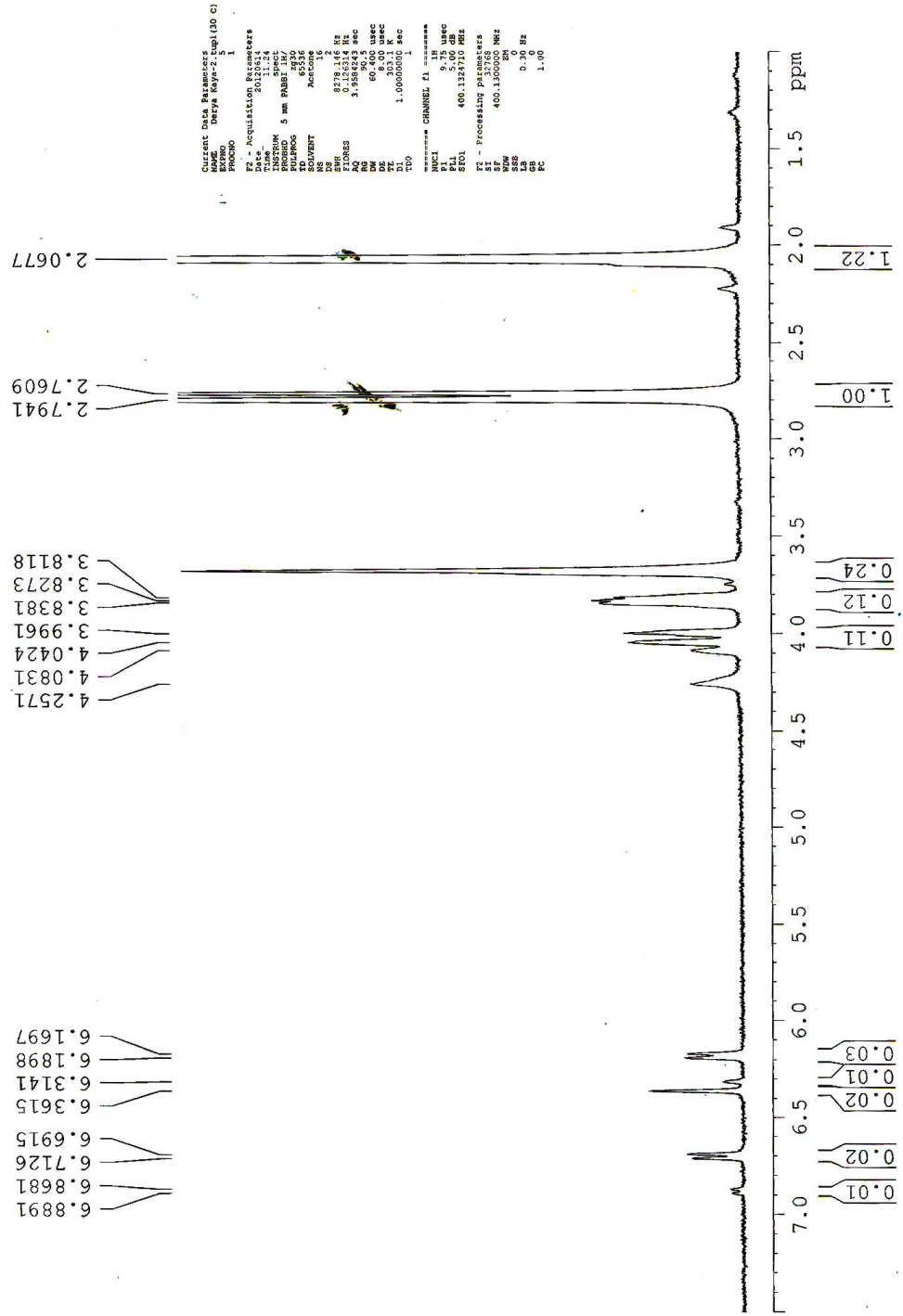
Bu çalışmada, Aceton-d₆ ortamında çözünmüş 4-Aminobenzo-15-Crown-5 taç etere; Sodyumperklorat (NaClO₄) ve Lityumperklorat (LiClO₄) tuzları eklenerek oluşturulan komplekslerin sıcaklık ve konsantrasyona bağlı olarak T₂ durulma zamanları ölçüldü.

Çalışmamızda kullandığımız 4-Aminobenzo-15-crown-5'in NMR spektrumu şekil 4.1 de verilmiştir. Oluşturulan komplekste yer alan her pik için sıcaklığa bağlı olarak elde edilen T₂ değerleri, Çizelge 4.5 de verilmiştir. Çizelge 4.5 deki verilerden yararlanarak, spektrumdaki her pik için $\ln T_2$ 'in , 1/T sıcaklığına göre değişimi şekil(4.6-4.11) da verilmiştir. Burada her bir pik için $\ln T_2$ 'in 1/T ile orantılı olduğunu ve her bir doğrunun da negatif bir eğime sahip olduğunu görüyoruz. Şekil şekil 4.1 teki spektrum piklerinin değerlendirilmesinden yola çıkılarak, E_a aktivasyon enerjileri ve ilgi zamanları (τ_0 , τ_c) değerleri hesaplandı.

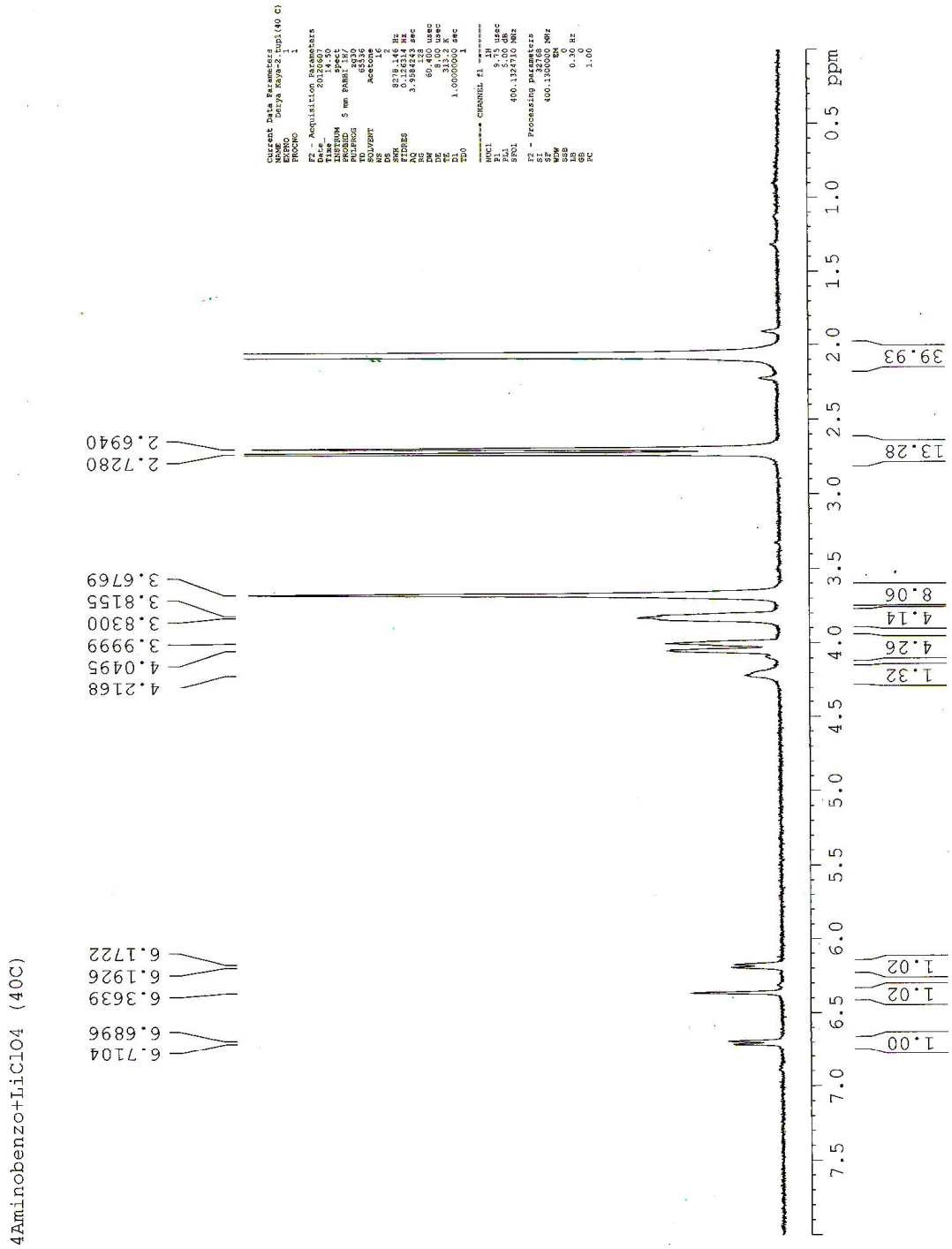


Şekil 4.1. 4-Aminobenzo-15-Taç -5 LiClO₄ ¹H NMR spektrumu

4aminobenzon+LiClO4 - proton- (14.06.2012)



Şekil 4.2. 4-Aminobenzo-15-Taç-5 LiClO₄ ¹H NMR spektrumu



Şekil 4.3. 4-Aminobenzo-15-Taç-5 LiClO₄ (40°) ¹H NMR spektrumu

4.1. Titrasyon Deneyleri

4.1.1. 4-Aminobenzo-15-Taç-5 ile NaClO_4 'ın ^1H NMR Titrasyon Deneyi

Kimyasal Kayma ($\Delta\delta$) Sonuçları

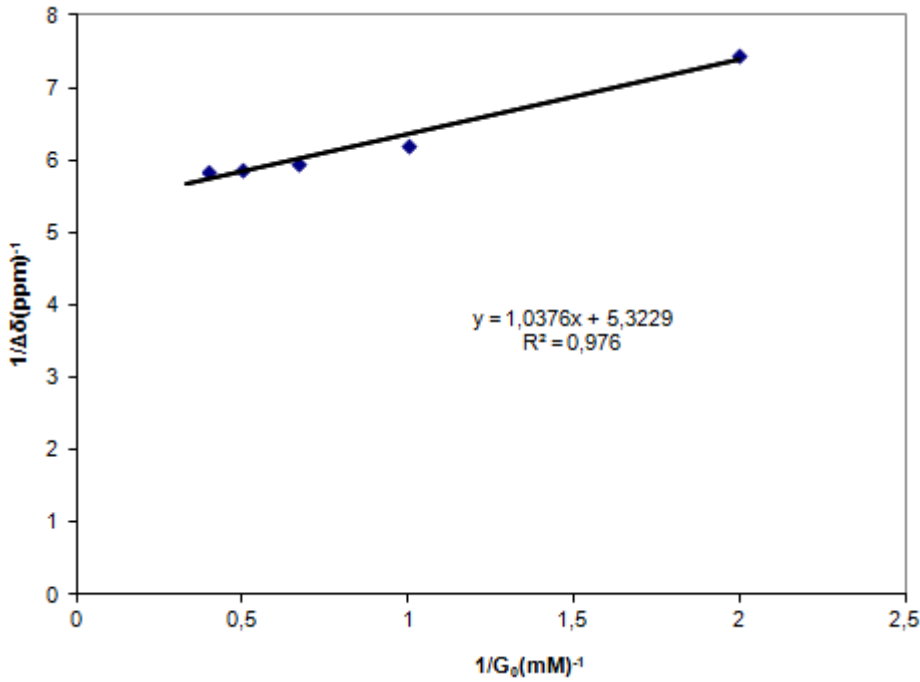
Konukçu Konsantrasyonu : $C_{\text{Host}} = 1,7 \times 10^{-3}$ M (Sabit)

Konuk Konsantrasyonları : $C_{\text{Guest}} = 0,5 \times 10^{-3}$ M

$$K_a(\Delta\delta) = 513,00 \text{ M}^{-1}$$

Çizelge 4.1. 4-Aminobenzo-15-Taç-5 ile NaClO_4 'ın ^1H NMR Titrasyon verileri

$G_0(\mu\text{l}) (10^{-4})$	$1/G_0 (10^3)$	δ (ppm)	$\Delta\delta$ (ppm) (10^{-2})	$1/\Delta\delta$ (ppm) $^{-1}$
0		6,689		
5	2	6,764	0,075	13,33
10	1	6,823	0,134	7,4626
15	0,67	6,85	0,161	6,2111
20	0,5	6,857	0,168	5,9523
25	0,4	6,859	0,17	5,8823
30	0,33	6,86	0,171	5,8479



Şekil 4.5. 4-Aminobenzo-15-Taç-5 ile NaClO_4 'ın ^1H NMR Titrasyon Grafiği

4.1.2. 4-Aminobenzo-15-Taç-5 ile NaClO₄' in ¹H NMR Titrasyon Deneyi Durulma Zamanı (ΔR) Sonuçları

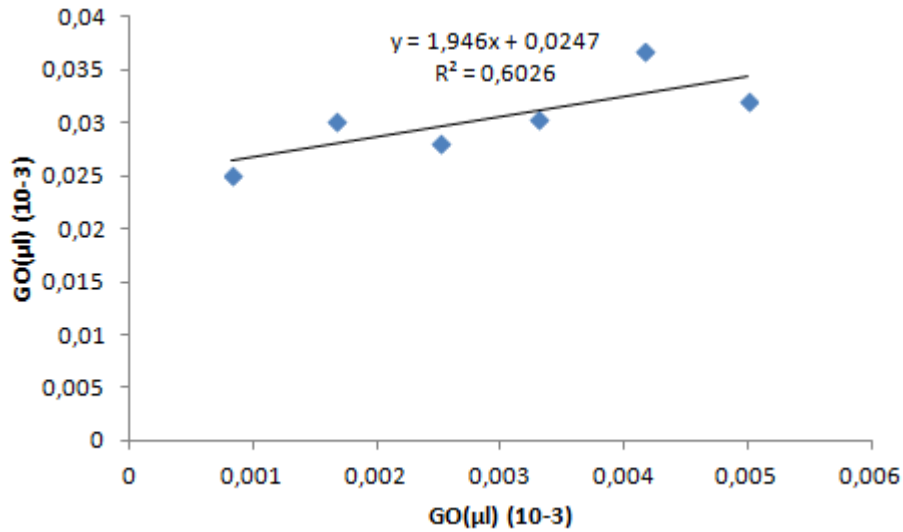
Konukçu Konsantrasyonu : C_{Host} = 1,7x10⁻³ M (Sabit)

Konuk Konsantrasyonları : C_{Guest} = 0-5x10⁻³ M

$$K_a(\Delta R) = 78,785 \text{ M}^{-1}$$

Çizelge 4.2. 4-Aminobenzo-15-Taç-5 ile NaClO₄' in ¹H NMR Titrasyon verileri

G _O (μl) (10 ⁻⁴)	T ₂ (ms)	1/T ₂ (ms ⁻¹)	ΔR (ms ⁻¹)	G _O / ΔR (M ms)
0	0,003095	0,0003231	0	
5	0,002807	0,00035625	0,03315	0,0250377
10	0,002645	0,00037807	0,05497	0,03019774
15	0,002427	0,00041203	0,08892	0,02811515
20	0,002316	0,00043177	0,10867	0,03036716
25	0,002291	0,00043649	0,11338	0,03669077
30	0,002087	0,00047915	0,15605	0,03204101



Şekil 4.6. 4-Aminobenzo-15-Taç-5 ile NaClO₄' in ¹H NMR Titrasyon Grafiği

4.1.3. 4-Aminobenzo-15-Taç-5 ile LiClO_4 ' in ^1H NMR Titrasyon Deneyi Kimyasal Kayma ($\Delta\delta$) Sonuçları

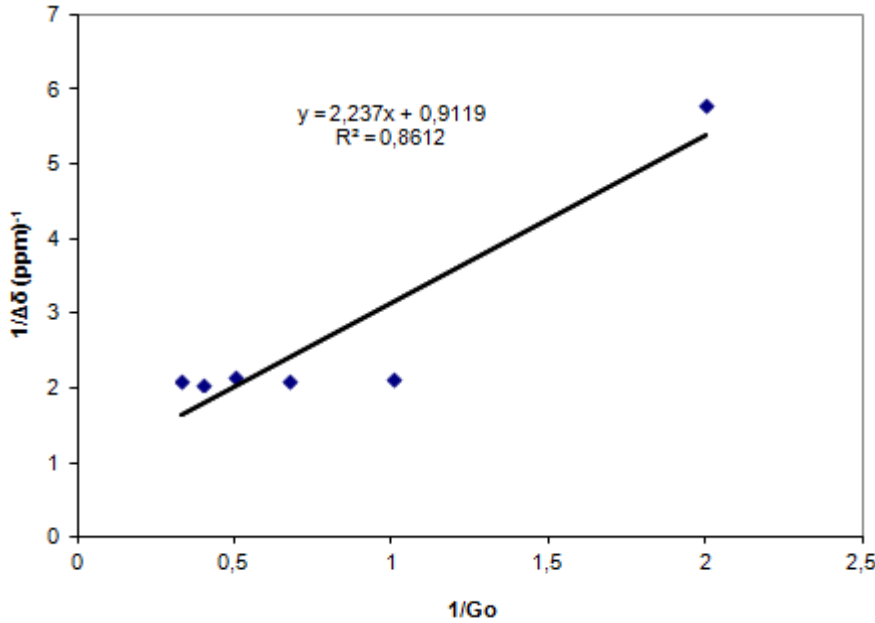
Konukçu Konsantrasyonu : $C_{\text{Host}} = 1,7 \times 10^{-3}$ M (Sabit)

Konuk Konsantrasyonları : $C_{\text{Guest}} = 0-5 \times 10^{-3}$ M

$$K_a(\Delta\delta) = 407,64 \text{ M}^{-1}$$

Çizelge 4.3. 4-Aminobenzo-15-Taç-5 ile LiClO_4 ' in ^1H NMR Titrasyon verileri

$G_0(\mu\text{l}) (10^{-4})$	$1/G_0 (10^3)$	δ (ppm)	$\Delta\delta$ (ppm) (10^{-2})	$1/\Delta\delta$ (ppm) $^{-1}$
0	0	6,36	0	0
5	2	6,377	0,017	5,8235
10	1	6,826	0,466	2,1459
15	0,67	6,833	0,473	2,1141
20	0,5	6,821	0,461	2,1691
25	0,4	6,843	0,483	2,0703
30	0,33	6,834	0,474	2,1097



Şekil 4.7. 4-Aminobenzo-15-Taç-5 ile LiClO_4 ' in ^1H NMR Titrasyon Grafiği

4.1.4. 4-Aminobenzo-15-Taç-5 ile LiClO₄ ' in ¹H NMR Titrasyon Deneyi Durulma Zamanı (ΔR) Sonuçları

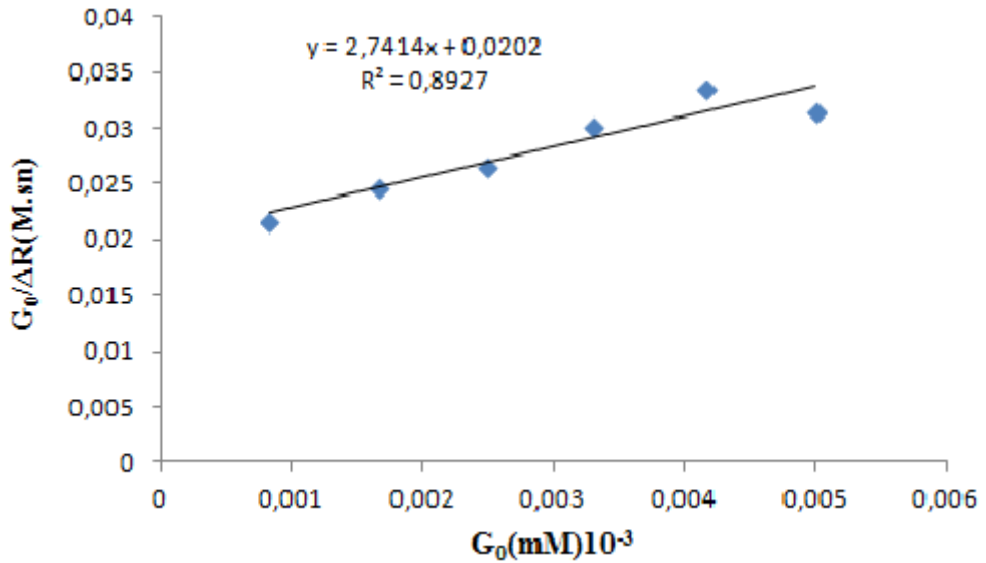
Konukçu Konsantrasyonu : C_{Host} = 1,7x10⁻³ M (Sabit)

Konuk Konsantrasyonları : C_{Guest} = 0-5x10⁻³ M

$$K_a (\Delta R) = 135,712M^{-1}$$

Çizelge 4.4. 4-Aminobenzo-15-Taç-5 ile LiClO₄ ' in ¹H NMR Titrasyon verileri

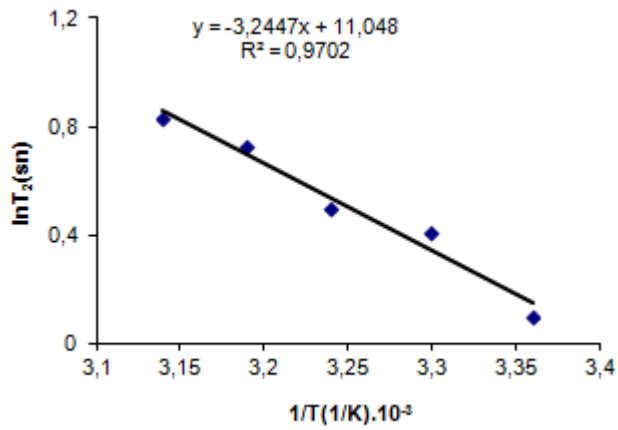
G ₀ (μl) (10 ⁻⁴)	T ₂ (ms)	1/T ₂ (ms ⁻¹)	ΔR (ms ⁻¹)	G ₀ / ΔR (M ms)
0	0,002847	0,0003512	0	0
5	0,002567	0,0003896	0,0003831	0,02166366
10	0,002391	0,0004182	0,0006698	0,02478055
15	0,002249	0,0004446	0,0009339	0,02676802
20	0,002174	0,00046	0,0010873	0,03034901
25	0,002105	0,0004751	0,0012381	0,03359932
30	0,001964	0,0005092	0,0015791	0,031662



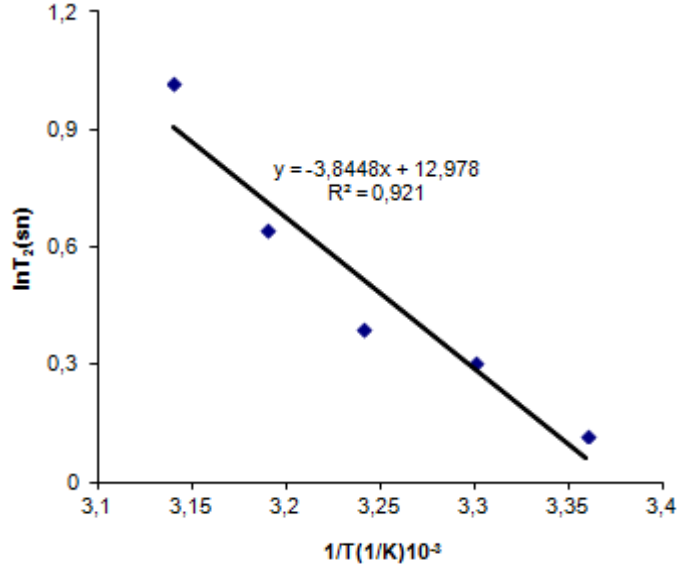
Şekil 4.8. 4-Aminobenzo-15-Taç-5 ile LiClO₄ ' in ¹H NMR Titrasyon Grafiği.

Çizelge 4.5. 4-Aminobenzo-15-Taç-5'in ^1H -NMR spektrumundaki her bir pik için spin-spin durulma zamanının (T_2) sıcaklığa (T) bağlı değerleri

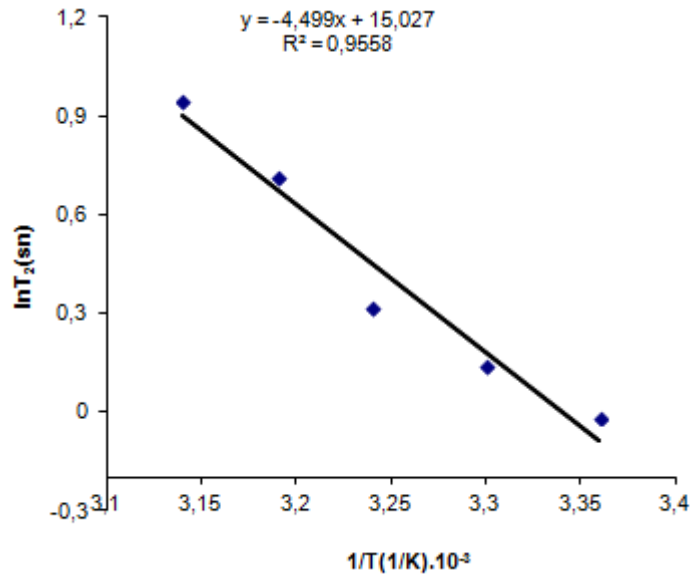
SICAKLIK	T_2 (sn)						
T(K)	Pik A	Pik B	Pik C	Pik C	Pik D	Pik E	Pik F
298	3,088	2,295	2,78	2,588	1,954	1,716	1,582
303	2,144	2,077	1,909	2,044	1,626	1,429	1,423
308	1,862	1,655	1,482	1,3762	1,468	1,228	1,234
313	1,456	1,507	1,361	1,156	1,238	1,051	1,135
318	1,217	1,106	1,128	0,987	1,148	0,979	1,006



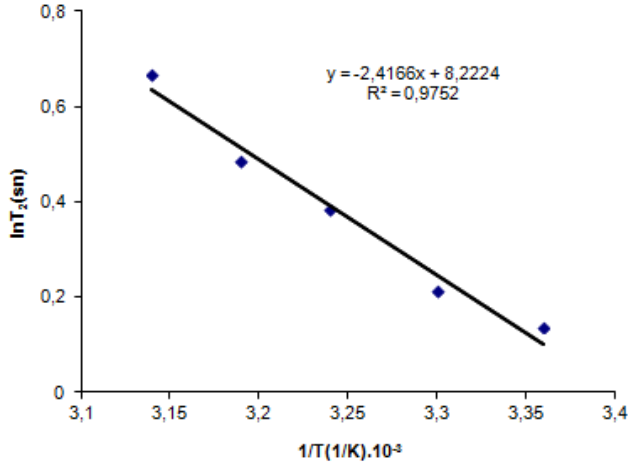
Şekil.4.9. Pik A için $\ln T_2$ nin $1/T$ sıcaklığına göre değişim grafiği



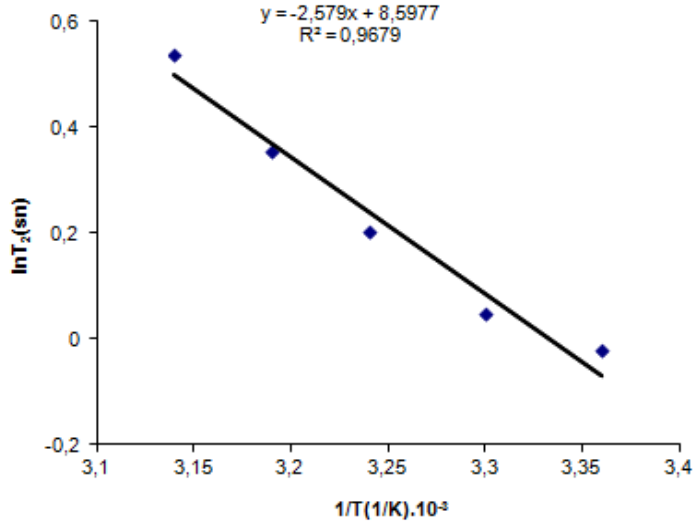
Şekil.4.10. Pik B için $\ln T_2$ nin $1/T$ sıcaklığına göre değişim grafiği



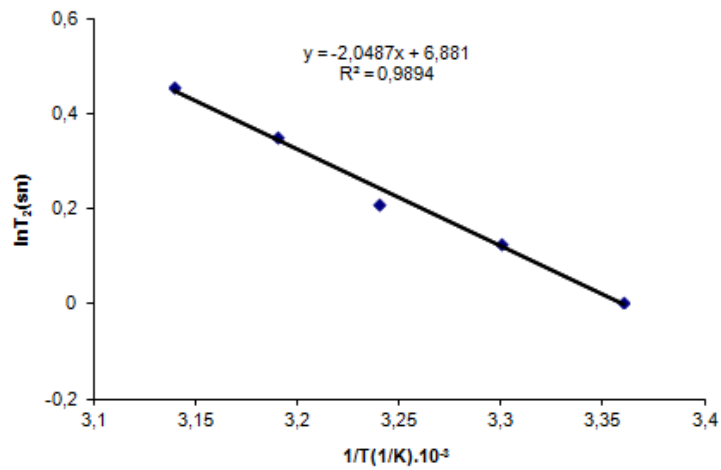
Şekil.4.11. Pik C için $\ln T_2$ nin $1/T$ sıcaklığına göre değişim grafiği



Şekil.4.12. Pik D için $\ln T_2$ 'nin $1/T$ sıcaklığına göre değişim grafiği



Şekil.4.13. Pik E için $\ln T_2$ 'nin $1/T$ sıcaklığına göre değişim grafiği



Şekil.4.14. Pik F için $\ln T_2$ 'nin $1/T$ sıcaklığına göre değişim grafiği

Şekil 4.9-4.14.deki doğruların denklemleri aşağıdaki gibidir

Pik A. $y = -3,2447x + 11,348$	$R^2 = 0,9702$
Pik B. $y = -3,8448x + 12,978$	$R^2 = 0,921$
Pik C. $y = -4,499x + 15,027$	$R^2 = 0,9558$
Pik D. $y = -2,4166x + 8,224$	$R^2 = 0,9752$
Pik E. $y = -2,579x + 8,08977$	$R^2 = 0,9679$
Pik F. $y = -2,3487x + 6,881$	$R^2 = 0,9894$

4.1.5. Sonuçlar

Hem kimyasal kayma farkları hem de durulma zamanlarındaki değişimler kullanılarak hesaplanan kompleksleşme sabitleri K_a 'lar çizelge 4.6. da ve $\ln T_2$ 'nin $1/T$ 'ye göre grafiksel değerlendirmesinden hesaplanan aktivasyon enerjileri (E_a) ve ilgi zamanları (τ_0), (τ_c) çizelge 4.7 de verilmiştir.

Çizelge 4.6. 4-aminobenzo-15-crown eter-5 için $K_a(\Delta\delta)(M^{-1})$: Kimyasal kaymalar ve $K_a(\Delta R)(M^{-1}) T_2$ durulma zamanları kullanılarak hesaplanan bağlanma sabitleri.

Host	Guest	$K_a(\Delta\delta)(M^{-1})$	$K_a(\Delta R)(M^{-1})$
4-aminobenzo-15-taç-5	NaClO ₄	513,00	78,785
	LiClO ₄	407,64	135,712

Çizelge 4.7. Şekil 4.1 deki spektrum piklerini, hesaplanan aktivasyon enerjileri (E_a) ve ilgi zamanları (τ_0), (τ_c).

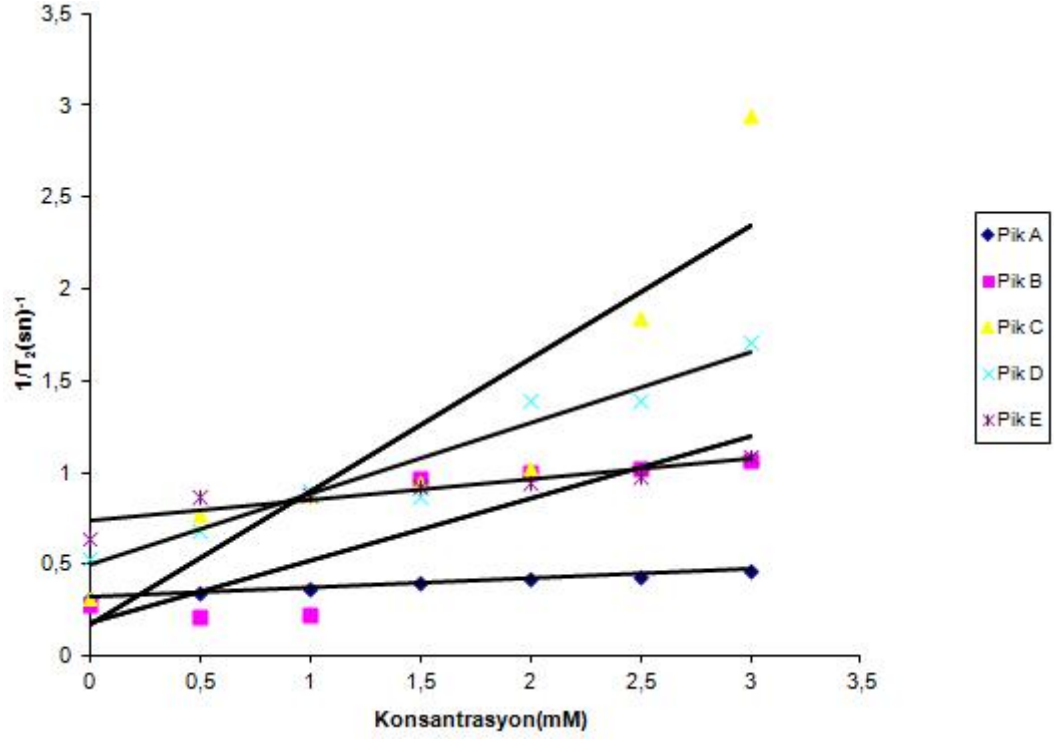
	Pik A	Pik B	Pik C	Pik D	Pik E	Pik F
E_a (Joule/mol)	26,97	31,96	37,40	20,09	21,44	17,03
τ_0 (sn)	$0,0614 \times 10^{-11}$	$0,0892 \times 10^{-12}$	$0,0115 \times 10^{-12}$	$1,03 \times 10^{-11}$	$7,12 \times 10^{-10}$	$3,96 \times 10^{-11}$
τ_c (sn)	$0,65 \times 10^{-10}$	$0,096 \times 10^{-12}$	$0,012 \times 10^{-12}$	$1,08 \times 10^{-11}$	$7,49 \times 10^{-10}$	$4,12 \times 10^{-11}$

Çizelge 4.8. 4-Aminobenzo-15-Taç-5'in; Sodyumperklorat (NaClO_4) tuzu eklenmesiyle oluşan kompleksin spin-spin durulma zamanının (T_2) konsantrasyona (C) bağlı değerleri.

NaClO_4 (mM)	T_2 (sn) PikA	T_2 (sn) PikB	T_2 (sn) PikC	T_2 (sn) PikD	T_2 (sn) PikE
0	3,095	3,493	3,088	1,845	1,54321
0,5	2,807	4,469	1,273	1,445	1,144034
1	2,645	4,333	1,119	1,098	1,120072
1,5	2,427	1,021	1,044	1,146	1,079098
2	2,316	0,992	0,974	0,716	1,006036
2,5	2,291	0,971	0,541	0,714	1,068034
3	2,087	0,925	0,338	0,584	0,916003

Çizelge 4.9. 4-Aminobenzo-15-Taç-5'in ; Lityumperklorat (LiClO_4) tuzu eklenmesiyle oluşan kompleksin spin-spin durulma zamanının (T_2) konsantrasyona (C) bağlı değerleri

LiClO_4 (mM)	T_2 (sn) PikA	T_2 (sn) PikB	T_2 (sn) PikC	T_2 (sn) PikD	T_2 (sn) PikE	T_2 (sn) PikF
0	3,772	3,695	4,027	2,109	1,861	2,847
0,5	2,989	3,269	3,688	1,127	1,511	2,567
1	1,684	3,17	3,492	1,986	1,467	2,271
1,5	1,465	2,817	2,613	1,522	1,326	2,109
2	1,265	2,404	2,406	1,464	1,285	2,014
2,5	1,195	2,259	2,255	1,3524	1,124	1,925
3	2,164	1,74	2,018	0,928	1,045	1,604



Şekil 4.15. Çizelge 4. 8' deki her bir pik için $1/T_2$ 'in konsantrasyona göre değişimini gösteren örneğin grafiği.

Şekil 4.15.deki doğruların denklemleri aşağıdaki gibidir

$$\text{Pik A. } y = 0,0487x + 0,3293$$

$$R^2 = 0,977$$

$$\text{Pik B. } y = 0,341x + 0,1798$$

$$R^2 = 0,7792$$

$$\text{Pik C. } y = 0,7259x + 0,1675$$

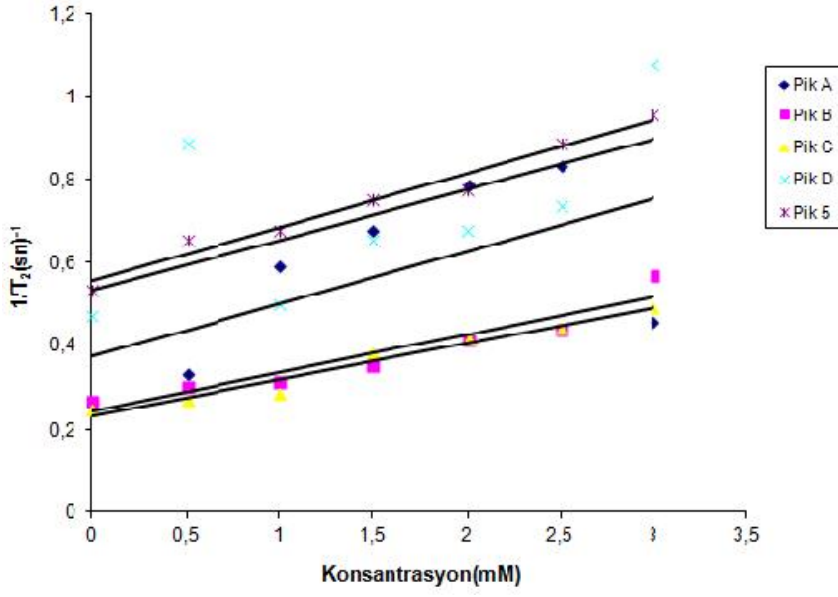
$$R^2 = 0,7997$$

$$\text{Pik D. } y = 0,3867x + 0,4952$$

$$R^2 = 0,9394$$

$$\text{Pik E. } y = 0,115x + 0,7377$$

$$R^2 = 0,8357$$



Şekil 4.16. Çizelge 4. 8'deki her bir pik için $1/T_2$ 'nin konsantrasyona göre değişimini gösteren örneğin grafiği.

Şekil 4.16.daki doğruların denklemleri aşağıdaki gibidir

Pik A. $y = 0,128x + 0,3745$	$R^2 = 0,3913$
Pik B. $y = 0,0919x + 0,2451$	$R^2 = 0,9047$
Pik C. $y = 0,868x + 0,2331$	$R^2 = 0,9654$
Pik D. $y = 0,121x + 0,5359$	$R^2 = 0,3813$

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Bu çalışmada, Aceton- d_6 ortamında çözülmüş 4-Aminobenzo-15-Crown-5 taç eterine Sodyumperklorat (NaClO_4) ve Lityumperklorat (LiClO_4) tuzları eklenerek oluşan komplekslerin T_2 durulma zamanları ölçüldü. Bu ölçümlerden yola çıkılarak bağlanma sabitleri(K_a) hesaplandı. İlk adım olarak, T_2 durulma zamanına bağlılığı içerecek şekilde modifiye edilmiş Benesi-Hildebrand ($[\text{G}_0]/\Delta R = 1/K_a \Delta R_m + [\text{G}_0]/\Delta R_m$) ve kimyasal kaymalarda meydana gelen değişim ($1/\Delta\delta = 1/K_a \Delta\delta_m [\text{G}_0] + 1/\Delta\delta_m$) yöntemlerine ilişkin denklemler kullanılarak iki farklı yöntemle yapıldı.

Ayrıca aceton- d_6 ortamında çözülmüş taç eterin(konukçunun) değişik sıcaklıklardaki T_2 Spin-Spin durulma zamanları ölçüldü.

Sabit derişimdeki ($1,7 \times 10^{-3} \text{M}$) taç eter çözeltilerine iyon eklenmesiyle oluşturulan komplekslerin, T_2 durulma zamanlarında meydana getirdiği değişimlere ait çizelgeler çizelge (4.1,4.2, 4.3, 4.4) de ve bu çizelgelerin değerlendirilmesinden elde edilen grafikler şekil (4.5, 4.6, 4.7, 4.8) de verilmiştir.

Aceton- d_6 ortamında çözülmüş taç eterin değişik sıcaklıklardaki T_2 Spin-Spin durulma zamanlarına ait çizelgeler Çizelge (4.5) de ve bu çizelgenin değerlendirilmesinden elde edilen grafik şekil (4.9) da verilmiştir.

Şekil (4.5, 4.6, 4.7, 4.8) deki grafiksel değerlendirmelerden elde edilen sonuçlar; Benesi-Hildebrand denklemine uyarlanmış T_2 durulma zamanları ve “kimyasal kaymalarda meydana gelen değişim yöntemi” ne ilişkin denklemlerde kullanılarak bağlanma sabitleri sırasıyla

4-Aminobenzo-15-Crown-5 + NaClO_4 için;

$$K_a(\Delta\delta) = 513,00 \text{ M}^{-1} \text{ ve } K_a(\Delta R) = 78,785 \text{ M}^{-1},$$

4-Aminobenzo-15-Crown-5 + LiClO_4 için;

$$K_a(\Delta\delta) = 407,64 \text{ M}^{-1} \text{ ve } K_a(\Delta R) = 135,712 \text{ M}^{-1},$$

olarak hesaplandı (burada; $\Delta\delta$: Kimyasal kayma farkı kullanılarak hesaplanan bağlanma sabiti ve ΔR : Durulma zamanları farkı kullanılarak hesaplanan bağlanma sabitidir).

Her iki yöntemle elde edilen bağlanma sabitlerine ilişkin sonuçlar karşılaştırıldığında anlamlı bir uyum olduğu görülmektedir. Ayrıca bu çalışmada

kullanılan taç eterin NaClO_4 ile güçlü ($513,00 \text{ M}^{-1}$) ve LiClO_4 ile kısmen zayıf ($407,64 \text{ M}^{-1}$) olmak üzere bire bir bağlanma gösterdiği gözlemlendi. Bu durum, 4-Aminobenzo-15-Crown-5 'in NaClO_4 iyonuyla daha güçlü bir şekilde kompleksleştiğinin bir göstergesi olabileceğini söylemektedir.

Ayrıca şekil 4.11'de elde edilen grafiklerden anlaşılacağı üzere $\ln T_2$ değerlerinin $1/T$ 'ye göre çizgisel olarak azaldığı görülmektedir. Bu grafiklerin değerlendirilmesinden hareketle; aktivasyon enerjileri ve ilgi zamanları hesaplandı. Burada T mutlak sıcaklıktır. Genelde Durulma mekanizmasının sıcaklık bağıllığı, korelasyon zamanının sıcaklık bağıllığından ileri gelmektedir. Korelasyon zamanı sıcaklığa

$$\tau_c = \tau_0 \exp(E_A / RT) \quad (5.1)$$

şeklinde bağlıdır. Denk 5.1. molekülün rotasyonal hareketinde (Yani serbest ve bağlı faz arasındaki kimyasal değiş-tokuş sürecinin hızlı olduğu durumlarda) anlam kazanır. Bizim deneylerimizde de, $\ln T_2$ Spin-Spin durulma zamanı değerlerinin $1/T$ 'ye göre çizgisel olarak azaldığı görülmektedir. Yüksek sıcaklıklarda ($\omega\tau_c \ll 1$ aşırı daralma koşulunda) τ_c korelasyon zamanı $1/T$ ile orantılı olur:

$$\tau_c \propto \frac{1}{T} \quad (5.2)$$

Denk(5.1) ile denk(5.2) karşılaştırıldığında;

$$\ln T_1 \propto \frac{1}{T} \quad (5.3)$$

olduğu görülür. Bizim deneysel olarak bulduğumuz sonuçlar da denk(5.3) ile uyumaktadır. Dolayısıyla bu mekanizmanın rotasyonal hareketten ileri geldiği söylenebilir (Burada $\omega\tau_c \ll 1$ yaklaşıklığı altında, $T_1 \cong T_2$ olarak alındı).

Sonuç olarak;

- Çözeltilere iyon eklenerek oluşturulan komplekslerin T_2 durulma zamanı sürelerinin kısaldığı gözlemlendi. Bu davranış molekülün dönme(veya takla) hareketinden kaynaklanmış olabileceğine yorumlandı.

- Sabit derişimdeki ($1,7 \times 10^{-3} M$) taç eter(Aceton- d_6 ortamında çözülmüş) çözeltilisinin $\ln T_2$ değerlerinin, $1/T'$ ye göre değişiminin çizgisel olarak azaldığı görölmektedir. Bu durum molekülün rotasyonel hareketinden kaynaklandığına yorumlanabilir.

- Benesi-Hildebrand ve kimyasal kayma yöntemleriyle elde edilen bağlanma sabitleri sonuçları karşılaştırıldığında, her iki ölçüm tekniği arasında anlamlı bir uyum olduğu görölmektedir. Bu durum, T_2 sonuçlarının da kullanışlı ve pratik bir öneme sahip olabileceğini vurgulamaktadır.

- Bu sonuçlar aynı zamanda kullandığımız taç eterin iyonlarla kompleksleştiğinin bir göstergesi olduğunu söylemektedir.

6. KAYNAKLAR

Apaydın, F., 1991. Magnetik Rezonans, H.Ü. Yayını

Apaydın, F., 1996. Magnetik Rezonans, Hacettepe Üniversitesi, Ankara 9-15, 93-106

Balcı, M., Nükleer manyetik rezonans spektroskopisi, ODTÜ Geliştirme Vakfı Yayıncılık ve 3letisim A.S., Ankara, Türkiye (2000).

Balcı M. ,(2004), Nükleer Manyetik Rezonans Spektroskopisi, Ankara, 464s.

“Balcı, M., 2004. Nükleer Manyetik Rezonans Spektroskopisi, ODTÜ Yayıncılık, ANKARA 5, 7, 8, 259-261, 268

Balcı Metin, Nükleer Manyetik Rezonans Spektroskopisi, ODTÜ yayıncılık, 2004, 7-263

Bartsch, R.A and Yand , H.W. 1984. Phase-Transfer Catalyzed Syhnthesis of Indazoles from o-Alkylbenzenediazonium Tetrafluoroborates., *j. Hetrocyc. Chem.*, 21; 1063-1065

Beer, P.D. 1986. The Synthesis of a Novel Schiff Base Bis (Taç Ether) Ligands Containing Recognition Sites for Alkali and Transition Metal Guest Cations. *J. Chem. Soc. Commun.*, 1678-1680.

Beer, P.D., Chen , Z., Drew, M.G.B and Pilgrim, A.J. 1994. Electrochemical Recognition of Group 1 and 2 Metal Cations by Redox-Active Ionophores., *Inorg. Chim. Acta*, 225 ; 137-144.

Bilge, S., Demiriz, Ş., Okumuş, A., Kılıç, Z., Tercan, B., Hökelek, T.ve Büyükgümgör, O. (2006). Phosporus-Nitrogen Compounds. Part 13. Syntheses, Crystal Structures, Spectroscopic, Stereogenic, and Anisochronic Properties of Novel Spiro-Ansa-Spiro-, Spiro-Bino-Spiro-, and Spiro-Crypta Phosphazene Derivatives. *Inorganic Chemistry*. 45(21), 8755-8765.

Bilge, S., Kılıç, Z., Çaylak, N. ve Hökelek, H. (2004b). Phosphorus-Nitrogen Compounds: Novel spiro-Cryptaphosphazenes. Structure of { Pentane-3-oxa –N,N' -bis (1,5- oxybenzyl)- spiro (propane-1',3' - diamino)-4,4,6,6- tetrachlorocyclo-2 λ 5, 4 λ 5,6 λ 5- triphosphazatriene}. Part IX. *J. Molecular Structur.* 707, 139-146.

Bilge, S., Natsagdorj, A., Demiriz,Ş., Kılıç, Z., Çaylak, N. ve Hökelek, H. (2004a). Phosphorus-Nitrogen Compounds: Novel spiro- Cyclic Phosphazenes Derivatives. Structure of N,N' -Propane – bis – spiro-2-(oxybenzylamino) -4,4,6,6 tetrachlorocyclo-2 λ 5, 4 λ 5,6 λ 5- triphosphazatriene. Part VIII. *Helv. Chim. Acta.* 87, 2088-2099.

Bloch, F.; *Phys. Rev.*, 1946, 70,460,

Bourigon, M., Wong, K.H., Hui, J.Y. and Smid, J. 1975. Interactions of Macrobicyclic Polyethers with Ion Pairs of Picrate Salts., *J. Am. Chem. Soc.*, 97; 3462-3467.

Böhmer, V., *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.* 1995, 34, 713-745.

Brandt, K., Kruszynoki, R., Bartzak, T. J. and Czomperlik, I.P. (2001). AIDS-related lymphome screen results and molecular structure determination of a new Taç ether bearing aziridnyclophosphazene, potentially capable of ion-regulated DNA cleavage action. *Inorg. Chim. Acta.* 332, 138-144

Carta, G.; Crisponi, G.; Lai, A., *J. Magn. Reson.* 1982, 48, 341-345.

Carta, G.; Crisponi, G., *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2*, 1982, 53-58.

Connors, K.A., *Binding Constants*, Wiley: New York, 1987.

Connors, K.A., *Chem. Rev.* 1997,97, 1325-1357.

Collet, A., *Tetrahedron* 1987, 43, 5725-5759.

Cram, D.J., *Science* 1988, 240, 760

Deranleau, D.A., *J. Am. Chem. Soc.* 1969,91, 4044-4049.

Dodziuk, H.; Ejchart, A.; Lukin, O.; Vysotsky, M.O., *J. Org. Chem.* 1999, 64, 1503-1507

Echegoyen L., Kaifer A., Durst H., Schultz R.A., Dishong D.M., Deepa M.G., Gokel Ekinci A. 2006 G.W., *J.Am.Chem.*, 1982, 47, 3195

Feeney, J.; Batchelor, J.G.; Albrand, J.P.; Roberts, G.C.K., *J. Magn. Reson.* 1979,33

Foster, R., Fyfe, CA., *Prog. Nucl. Magn. Reson. Spectrosc.* 1969, 4, 1-89.

Gil, V.M.S.; Oliveria, N.C., *J. Chem. Ed.* 1990, 473-478.

Gokel, G.M., Murillo, O., Watanabe, S. and Nakano, I. 1995. Synthetic Models for Transmembrane Channels ; Structural Variations That Alter Cation Flux., *J. Am. Chem. Soc.*, 117; 7665-7679.

Gokel, G.W. 1991. Taç Ethers and Cryptands., *Monographs in Supramolecular Chemistry*, 1-63, Coral Gables, Florida, U.S.A.

Granot, J., *Magn. Reson.* 1983, 55, 216-224.

Guida, W.C. and Mathre, D. J. 1980. Phase-Transfer Alkylation of Heterocycles in the Presence of 18-Taç-6 and Potassium tert-Butoxide. *J. Org. Chem.*, 45; 3172-3176.

Güleç,A., 2005. Çekirdek Magnetik Rezonans Bilgisayarlarında Çoklu ÇMR Puls Dizilerinin Kullanımı, S.D.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü ,68s, Isparta

Gültekin, D. H., Gore, J., 2004. Temperature dependence of nuclear magnetization and relaxation. Yale University, New Haven, CT 06510, Vanderbilt University Institute of vImaging Science, Nashville, TN 37232, United States.

Hancock, R.D., Bhavan, R. and Wade, P.W. 1988. Ligand Design for Complexation in Aqueous Solution., *Inorg. Chem.*, 28; 187-194.

Hancock, R.D., Mumela, H. and Sousa, A.S. 1996. Macrocyclic Ligand with Pendent Amide and Alcoholic Oxygen Donor Groups., *Coordination Chemistry Reviews*, 148; 315-347.

Hsu, J.J., and Lowe, J.I., 2004. Spin-Lattice relaxation and a fast 1 T -map acquisition method in MRI with transient-state magnetization., *J. Magn. Reson.* 169 270-278.

Ihara, T., Sueda, S., Inenaga, A., Fukuda, R. ve Takagi, M. (1997). *Supramol. Chem.* 8, 93.

Ijeri, V.S. and Srivastava, A.K. 2001. Voltammetric determination of lead at chemically modified electrodes based on Taç ethers, *Anal. Scie.*, 17,605.

Jenkins, B.G., 1991. Site Specific Water Proton Relaxation Enhancement of Iron(III)Chelates Noncovalently Bound to Human Serum Albumin, *Magnetic Resonance in Medicine* 17,164-178.

Job, P., *Ann. Chim.* 1928, 9, 113-203.

Jones, R., Dwek, R.A., 1974. The Mechanism of Water Proton Relaxation Enzyme-Paramagnetic Ion Complexes, *Eur. J. Biochem.* 47,271-283.

Kang, Y. S., Gore, J. S., Armitage, I. M., 1984. Studies of Factors Affecting The Design of NMR Contrast Agents Manganese in Blood as a Model System, *Magn. Reson. in Med.* 1, 396-409.

Katayama, Y., Nita, K., Veda, M., Nakamura, H. And Takagi, M. 1985. Synthesis of Chromogenic Taç Ethers and Liquid Extraction of Alkali Metal Ions., *Analytica Chimica Acta*, 173; 193-209.

Kessler, H., Schmieder, P. and Kurz, H., 1989. Implementation of the DEPT sequence in inverse shift correlation of the DEPT-HMQC. *J. Magn. Reson.*, 85, 400-405.

Kor, H. 2012. Farklı iyonlarla katkılanmış çeşitli taç eter türevlerinin yüksek alan NMR spektrometresi ile incelenmesi. Doktora Tezi. Dicle üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Diyarbakır.

Laberre, C.F., Bovin, O.J. and Goly, J. (1979). The crystal structure of a new antitumor agent: 2, 2, 4, 4, 6, 6, 8, 8, -octapyrolidinylcyclotetra (phosphazane), $N_4P_4(NC_4H_8)_8$. *Acta Cryst. B* 35, 1182-1186.

- Mandal, P. K. and Majundar, A., 2004. A comprehensive discussion of HSQC and HMQC pulse sequences. *Concepts Magn. Reson.* 20A(1), 1–23.
- Mathur, R.; Becker, E.D.; Bradley, R.B.; Li, N.C., *J. Phys. Chem.* 1963, 67, 2190.
- Matsui, Y.; Tokunaga, S., *Bull. Chem. Soc. Jpn*, 1996, 69, 2477-2814.
- McPhee, M.M., Kern, J.T., Hoster, C.B. and Kerwin, S.M.(2000). *Bioorg. Chem.*8,98.
- Mildvan, A. S., Cohn, M., 1963. Magnetic Resonance Studies of The Interaction of The Manganese Ion with Bovine Serum Albumin, *Biochemistry*, 2, 910
- Müller, L. 1979. Sensitivity enhanced detection of weak nuclei using heteronuclear multiple quantum coherence. *J. Am. Chem. Soc.*, 101, 4481–4484.
- Navon,G., 1970. Proton Relaxation Times and Hydration Numbers of Manganese Ions Bound to Enzymes, *Chemical Physics Letters*, 3,390-394.
- Norheim, G., *Acta. Chem. Scand.* 1969, 23, 2808-2814.
- Peacocke,A.R.,Richards,R.E.,Sheard,B., 1969. Proton Magnetic Relaxation in Solutions of E.Coli Ribosomal RNA Containing Mn(II) Ions., *Molecular Physics*, 16,177-189
- Pedersen 1967-1970
- Person, W.B., *J. Am. Chem. Soc.* 1965, 87, 167-170.
- Porwolik-Czomperlik, I., Brandt, K., Clayton, A.T., Davies, D.B., Eaton, R.J. and Shaw, R.A. (2002). Diastereoisomeric singly cyclophosphazene – macrocyclic Compounds. *Inorg. Chem.* 41, 4944-4951.
- Reuben,J., 1971. Gadolinium(III) as a Paramagnetic Probe for Proton Relaxation Studies of Biological Macromolecules. Binding to Bovine Serum Albumin., *Biochemistry*,15,2834-2838.
- Schneider, H-J.; Hacket, F.; Rudiger, V.; Ikeda, H., *Chem. Rev.* 1998, 98, 1755-1785.

Sherry, A.D., Birnbaum, E.R., Darnall, D.W., 1973. Proton Relaxation Studies in H_2O D_2O Mixtures. The Binding of Manganese to BSA., *Analytical Biochemistry*, 52, 415-420.

Slichter, C., P., Çevirenler: Köksal F. ve Yüksel H., 1984. Katı Hal Fiziğinden Örneklerle Magnetik Resonansın İlkeleri. Ankara Üniversitesi Basımevi, Ankara.

Slichter, C.P., Principles of magnetic resonance, 1989, 2

Spitzer, T., Sefler, A. M. and Rutkowske, R., 2001. An improved DEPT-HMQC sequence for high-throughput NMR analysis. *Magn. Reson. Chem.*, 39, 539-543.

Stamm, H.; Lambert, W.; Staffe, J., *Tetrahedron* 1976, 32, 2045-2050.

Şahin, M., 2002. Bazı Pulslu ÇMR Deneylerinin Çeşitli Spin Sistemleri için Çarpım İşlemci Kuramı ile Analitik İncelenmesi, S. D. Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü, 117s, Isparta

Tabak, F., 1994. NMR'nin Temelleri, Hacettepe Üniversitesi, Ankara.

Takayama, K.; Nambu, N.; Nagai, T., *Chem. Pharm. Bull.* 1979, 27, 715-720.

Tsukube, H.; Furuta, H.; Odani, A.; Takeda, Y.; Kudo, Y.; Inoue, Y.; Liu, Y.; Sakamoto, H.; Kimura, K.; In *Comprehensive Supramolecular Chemistry. Physical Methods in Supramolecular Chemistry*, Davies, J.E.D.; Ripmester, J.A.; Eds.; Elsevier: Oxford, 1996; Vol. 8, 425-483

Toğrul, M., 2004, Doktora Tezi, Dicle Üniversitesi, Diyarbakır.

Turgut, Y., 2004, Doktora Tezi, Dicle Üniversitesi, Diyarbakır.

Tsukube, H.; Furuta, H.; Odani, A.; Takeda, Y.; Kudo, Y.; Inoue, Y.; Liu, Y.; Sakamoto, H.; Kimura, K., In *Comprehensive Supramolecular Chemistry. Physical Methods in Supramolecular Chemistry*, Davies, J.E.D., Ripmester, J.A., Eds.; Elsevier: Oxford, 1996; Vol. 8, 425-483.

Volkov, A., 1997. Contrast Agents in Magnetic Resonance Imaging.

Wallimann, P.; Marti, T.; Furer, A.; Diederich, F., Chem. Rev. 1997, 97, 1567-1608.

Webb, T.H.; Wilcox, C.S., Chem. Soc. Rev. 1993,22,383.

Weber, G., Molecular Biophysics; Pullman, B.; Weissbluth, M., Eds., Academic: New York , 1965; pp 369-397.

Weber, G.; Anderson , S.R., Biochemistry, 1965, 4, 1942-1947.

Wilcox, C.S., Frontiers in Supramolecular Organic Chemistry and Photochemistry; Schneider, H.-J.; Dürr, H., Eds., VCH: Weinheim, 1991 ; pp 123-143.

Wong, K.F.; Ng, S., Spectrochim. Acta A, 1976, 32, 455-456.

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı Soyadı : ÇİĞDEM AKMANSOY

Doğum Yeri : TUNCELİ

Doğum Tarihi : 12.05.1982

Medeni Hali : Bekar

Yabancı Dil : İngilizce

Eğitim Durumu

Lisans : GAZİ ÜNİVERSİTESİ FEN FAKÜLTESİ FİZİK BÖLÜMÜ